

## **СAG ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА У ЖІНОК В ПОСТМЕНОПАУЗІ, ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ ТА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ**

©Т. С. Бутова

*Харківський національний медичний університет*

**РЕЗЮМЕ.** Дослідити зв'язок між СAG-повторами гена *AR* та рівнем дигідротестостерону (ДГТ) у сироватці крові у жінок у постменопаузі (ПМ), хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу та артеріальну гіпертензію (АГ).

106 жінок у ПМ були поділені на групи: до 1 входило 30 хворих на ЦД 2 типу; до 2 – 34 хворих на АГ 2–3 ступеня; до 3 – 42 хворих на АГ 2–3 ступеня та ЦД 2 типу, до групи контролю – 31 жінка. У всіх жінок імуноферментним способом вимірювали рівень ДГТ в сироватці крові, виділяли геном ДНК з лейкоцитів крові, проводили ідентифікацію кількості СAG-повторів у гені *AR* методом ПЦР.

СAG-повтори спостерігали у 96 (70,07±3,91 %) з 137 випадків. Мінімальне число СAG-повторів дорівнювало 14, максимальне – 28, поширеність алелів гена *AR* була достовірно різною залежно від груп пацієнток. З метою визначення впливу поліморфізму гена *AR* на ризик розвитку захворювання було проведено порівняльний аналіз довжини алелей між групами спостереження за допомогою показника SBM. За критичне значення кількості СAG-повторів було взято 22 повтори. Між показниками рівня ДГТ і СAG-повторами серед всіх груп спостерігали прямий кореляційний зв'язок.

АГ як супутня хвороба негативно впливає на перебіг ЦД 2 типу у жінок у ПМ, що виражається у більшому підвищенні рівня ДГТ у венозній крові у групі хворих з коморбідною патологією, ніж у хворих на ЦД 2 типу.

Виявлено зв'язок між рівнем ДГТ у плазмі крові та кількістю СAG-повторів у жінок у ПМ, більш сильний кореляційний зв'язок був між ДГТ і «довгими» алелями гена *AR* у групі з коморбідною патологією (АГ з ЦД 2 типу).

Наявність збільшеної кількості СAG-повторів у гені *AR* можна розцінювати як предиктор розвитку та прогресії АГ у жінок з ЦД 2 типу у ПМ.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** артеріальна гіпертензія, цукровий діабет, поліморфізм гена *AR*, дигідротестостерон, постменопауза.

**Вступ.** Сучасна жінка майже третину свого життя проводить у стані дефіциту статевих гормонів [1]. У цей період серцево-судинні захворювання (ССЗ) стають провідною причиною захворюваності і смертності серед жінок. Найнебезпечнішим є поєднання артеріальної гіпертензії (АГ) і цукрового діабету (ЦД), яке, порівняно з чоловіками, збільшує ризик смертності у жінок у 2 рази [2].

Численні дослідження довели гендерні відмінності у розвитку та перебігу низки захворювань [3, 4]. Європейське ендокринологічне суспільство ставить акцент на вивчення впливу андрогенів на здоров'я жінки у різні періоди її життя [5]. Відомо, що андрогени у жінок в постменопаузний період чинять на організм як пряму, так і опосередковану естрогенами дію, вони важливі для сталого стану жіночого здоров'я [6].

Андрогени впливають на організм людини через зв'язування зі своїм специфічним рецептором. Тож одним із актуальних механізмів на сьогодні, які обумовлюють відмінності у реалізації біологічних ефектів андрогенів, є поліморфізм СAG-повторів гена рецептора андрогенів, що обумовлює чутливість рецепторів до дії даних гормонів. Ядерний андрогеновий рецептор (АР) розташований на клітинах-мішенях різних тканин: АР містяться у клітинах судин, сім'яників, простати, шкіри, клітинах нервової та інших тканин і найбільше активізуються під дією дигідротестостерону (ДГТ),

який утворюється у результаті тканинного метаболізму тестостерону та є біологічно найактивнішим андрогеном. Геномні ефекти андрогенів обумовлені алельними варіантами поліморфізму коротких повторювальних послідовностей першого екзону гена рецептора андрогенів (*AR*) за кількістю СAG-повторів: цитозин-аденін-гуанін повторів. У нормі у представників європеїдної раси у гені *AR* 20–26 СAG-повторів [7, 8]. Алелі із частотою 9–35 повторів розглядають як ризик розвитку патології, але вони можуть зустрічатись і у здорових людей. Алелі з числом повторів більше 38 патогенетичні для всіх носіїв: у пацієнтів розвиваються нейром'язова патологія (спінальна бульбарна м'язова атрофія та ін.) [9]. Існує зворотна залежність між кількістю СAG-повторів і активністю АР: зі збільшенням числа повторів спостерігається зменшення функціональної активності АР [10, 11]. Ген рецептора андрогену *AR* міститься у Х-хромосомі, тобто має Х-зчеплений тип наслідування. Таким чином, жінки можуть мати як один варіант гена (гомозиготи), так і 2 різних варіанти СAG-повторів (гетерозиготи) [12].

**Мета дослідження.** Дослідити зв'язок між СAG-повторами гена *AR* та рівнем ДГТ у сироватці крові у жінок у постменопаузі, хворих на цукровий діабет 2 типу та артеріальну гіпертензію.

**Матеріал і методи дослідження.** У дослідженні взяли участь 106 жінок, які перебували на

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

лікуванні в ендокринологічному та кардіологічному відділеннях КЗОЗ «Обласна клінічна лікарня – центр екстреної медичної допомоги та медицини катастроф» м. Харкова.

Обстежені жінки перебували в ранній природній постменопаузі, не мали тяжких супутніх нефропатій, гострих серцево-судинних захворювань, порушень мозкового кровообігу, гострих запальних та загострення хронічних запальних захворювань, онкологічної патології, токсичних та вірусних гепатитів, алергічних реакцій, тютюнової та алкогольної залежності.

Пацієнти були поділені на групи: до 1 входили хворі на цукровий діабет 2 типу (30 пацієнток); до 2 – хворі на АГ 2–3 ступеня (34 пацієнтки); до 3 – хворі на АГ 2–3 ступеня та ЦД 2 типу (42 пацієнтки). До групи контролю входила 31 жінка в ранній природній постменопаузі, з відсутністю ендокринних захворювань, нормальним артеріальним тиском та рівнем глікозильованого (глікованого) гемоглобіну  $HbA1c < 6\%$ .

Усі жінки проживали у одній місцевості. На момент обстеження пацієнтки, які мали захворювання на ЦД 2 типу, перебували в стадії субкомпенсації, субоптимального глікемічного контролю ( $HbA1c < 7,5\%$ ). Жінки з АГ мали рівень глікозильованого (глікованого) гемоглобіну  $HbA1c < 6\%$ . Групи були зіставні за віком, віком настання менопаузи, тривалістю постменопаузального періоду, індексом маси тіла (ІМТ). Замісну гормональну та гіполіпідемічну терапію пацієнтки до госпіталізації та включення у дослідження не отримували. Впродовж лікування у стаціонарі пацієнтки отримували терапію згідно з діючими клінічними протоколами.

Вік обстежених пацієнток варіював в діапазоні 45–60 років. Дані про вік настання природної менопаузи, тривалість періоду постменопаузи отримали зі слів пацієнток. Тривалість постменопаузального періоду була від 2 до 6 років (табл. 1). Усім пацієнткам визначали вміст фолікулосимулювального гормону (ФСГ) у сироватці крові імуноферментним методом з використанням набору реактивів для імуноферментного дослідження фірми «ХЕМА» (Російська Федерація). Менопаузу діагностували при рівні ФСГ більше 25 МОд/мл.

Діагноз ЦД 2 типу встановлювали відповідно до класифікації порушень глікемії (WHO, 2006 [13] та наказу МОЗ України № 1118 від 22.12.2012). Верифікацію артеріальної гіпертензії проводили згідно з рекомендаціями Європейського товариства з ведення артеріальної гіпертензії (ESH) та Європейського товариства кардіологів (ESC) (2013) [14], рекомендацією Української асоціації кардіологів (2008) [15] та наказом МОЗ України № 384 від 24.05.2012. Артеріальна гіпертензія у досліджуваних пацієнток викликана гіпертонічною хворобою (ГХ) II стадії 2–3 ступеня. Стадію ГХ встановлювали за класифікацією, розробленою експертами ВООЗ (1963–1993), прийнятою в Україні у 1992 р. згідно з Наказом МОЗ України № 206 від 30.12.1992 і рекомендованою до подальшого застосування.

Рівень дигідротестостерону в сироватці венозної крові вимірювали імуноферментним способом з використанням набору для імуноферментного дослідження фірми «DRG International Inc» (USA).

Геномну ДНК виділяли з лейкоцитів венозної крові за допомогою набору реактивів NeoPrep100 DNA (набір фірми NEOGENE (Україна)). Ідентифікацію кількості САГ-повторів у 1 екзоні гена *AR* проводили методом ПЦР за допомогою набору реактивів фірми NEOGENE (Україна). У нашому дослідженні, згідно з інструкцією до набору, у нормі довжина ампліфікованої ділянки 227–245 пар основ (20–26 САГ-повторів відповідно).

Частоту алелів, що зустрічаються, обчислювали шляхом прямого підрахунку за формулою:  $F = n/2N$ , де  $n$  – кількість випадків виявлення алеля у дослідній групі (у гомозигот алель враховувався двічі);  $N$  – число досліджених зразків.

З метою визначення впливу поліморфізму гена *AR* на ризик розвитку захворювання було проведено порівняльний аналіз довжини алелів у групах. Для цього було досліджено частоту поширення алелів гена *AR* та частоту SBM (simple biallelic mean), показника середнього біалельного значення, який визначається як середнє арифметичне кількості САГ-повторів обох алелів.

Фактичний матеріал опрацьовано на персональному комп'ютері за допомогою аналізу бази

Таблиця 1. Вікові показники по групах,  $M \pm m$

Показник	Групи			
	1 (хворі на ЦД)	2 (хворі на АГ)	3 (хворі на ЦД та АГ)	група контролю
Вік, років	51,43±0,97	53,36±0,82	52,05±0,74	53,77±0,81
Вік настання природної менопаузи, років	47,53±1,02	49,26±0,91	47,79±0,73	49,23±0,86
Тривалість постменопаузи, років	3,90±0,25	4,11±0,24	4,26±0,21	4,54±0,22

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

даних карт хворих, адаптованих для обробки за програмою Microsoft Excel. Статистичну значущість різниці показників визначали з використанням t-критерію Стьюдента у незалежних групах з урахуванням розбіжності у кількості спостережень. Існування лінійної залежності між показниками аналізували за допомогою розрахунку коефіцієнта парної кореляції Карла Пірсона ( $r$ ) [16].

**Результати й обговорення.** У нашому дослідженні САГ-повтори спостерігалися у 96 (70,07±3,91%) з 137 випадків. Мінімальне число САГ-повторів дорівнювало 14, максимальне – 28, але при цьому поширеність алелів гена *AR* була достовірно різною, залежно від груп пацієнток.

Дослідження зразків ДНК, отриманих від 31 відносно здорової жінки, показало наявність повторів САГ-тринуклеотидів у 29 з 31 випадка. Мінімальне число САГ-повторів дорівнювало 17, максимальне – 28. У контрольній групі найпоширеніший алель з 24 САГ-повторами був виявлений у 24 (41,38 %) випадках з 58 (табл. 2).

У хворих 1 групи повтори САГ-тринуклеотидів спостерігалися у 28 з 30 випадків, число САГ-тринуклеотидів варіювало від 17 до 27. Найпоширенішим алелем гена *AR*, виявленим у пацієнток з ЦД 2 типу, був алель з 20 САГ-повторами, він зустрічався в 24 з 56 випадків (табл. 2).

При дослідженні 2 групи (АГ) було виявлено наявність повторів САГ-тринуклеотидів у 31 хворої з 34 випадків, при цьому число САГ-тринуклеотидів варіювало від 18 до 27. Найпоширенішим

алелем гена *AR* було виявлено алель з 25 повторами САГ-тринуклеотидів, він зустрічався у 23 з 62 випадків (табл. 2).

У хворих третьої групи (ЦД та АГ) наявність повторів САГ-тринуклеотидів спостерігалось у 37 хворих з 42 випадків. При цьому максимальне значення САГ-повторів було 26, а мінімальне – 14. Найпоширенішим алелем гена *AR* був алель з 19 САГ-повторами, він зустрічався у 28 з 74 випадків (табл. 2). На фоні даного розподілу алелів гена андрогенів у жінок 3 групи спостерігалась найвиразніша статистично значуща дигідротестостеронемія серед дослідних груп (табл. 3).

З метою визначення впливу поліморфізму гена *AR* на ризик розвитку захворювання було проведено порівняльний аналіз довжини алелів між групами спостереження за допомогою показника SBM (табл. 4). У нашому дослідженні за критичне значення кількості САГ-повторів гена *AR* було взято 22 повтори.

За допомогою кореляційного аналізу Пірсона виявлено зворотний зв'язок між рівнем ДГТ і кількістю САГ-повторів (табл. 5).

Як видно з результатів, представлених у таблиці 5, між показниками рівня ДГТ у сироватці крові і САГ-повторами гена андрогенового рецептора у обстежених жінок всіх груп спостерігається прямий кореляційний зв'язок, що свідчить про пряму негативну залежність показника концентрації ДГТ у сироватці крові та довжиною САГ-повторів гена *AR* (табл. 5).

Таблиця 2. Розподіл алелів гена *AR* за кількістю САГ-повторів

Групи	n	Кількість випадків САГ-повторів	Варіації САГ-тринуклеотидів	Кількість САГ-повторів у поширенішому алелі (частота зустрічальності, %)
Перша група (хворі на ЦД 2 типу)	30	28 (93,33±4,55%)	Від 17 до 27	20 у 24 випадках з 56 (42,86±6,61)
Друга група (хворі на АГ 2–3 ступенів)	34	31 (91,18±4,86%)	Від 18 до 27	25 у 23 випадках з 62 (37,10±6,13)
Третя група (хворі на ЦД 2 типу та АГ 2–3 ступенів)	42	37 (88,10±5,00%)	Від 14 до 26	19 у 28 випадках з 74 (37,84±5,64)
Група контролю	31	29 (93,55±4,41%)	Від 17 до 28	24 у 24 випадках з 58 (41,38±6,47)

Таблиця 3. Особливості вмісту дигідротестостерону в крові жінок у постменопаузному періоді

Показник	Групи за результатами обстеження			
	хворі на ЦД 2 типу (n=30)	хворі на АГ (n=34)	хворі на ЦД 2 типу та з АГ (n=42)	група контролю (n=31)
Дигідротестостерон, пг/мл	75,68±2,96**	58,71±3,78*#	92,18±3,36*°	44,22 ± 1,78

Примітки:

\* –  $p < 0,05$  за t-критерієм Стьюдента, порівняння 1, 2 і 3 груп з 4;

° –  $p < 0,05$  за t-критерієм Стьюдента, порівняння 1 групи з 2;

° –  $p < 0,05$  за t-критерієм Стьюдента, порівняння 1 групи з 3;

# –  $p < 0,05$  за t-критерієм Стьюдента, порівняння 2 групи з 3.

Таблиця 4. Оцінка поліморфізму гена андрогенового рецептора

Групи	n	Кількість випадків CAG-повторів	Діапазон SBM	Середнє значення SBM	Кількість CAG-повторів у найпоширенішому алелі (частота зустрічальності, %)
Перша група (хворі на ЦД 2 типу)	30	28 (93,33±4,55%)	19-26,5	21,27	20 у 7 випадках з 56 (12,50±4,42)
Друга група (хворі на АГ 2–3 ступенів)	34	31 (91,18±4,86%)	18-26,5	23,85	25 у 7 випадках з 62 (11,29±4,02)
Третя група (хворі на ЦД 2 типу та АГ 2–3 ступенів)	42	37 (88,10±5,00%)	16,5-26	20,43	19 у 10 випадках з 74 (13,51±3,97)
Група контролю	31	29 (93,55±4,41%)	18-27,5	23,83	24 у 8 випадках з 58 (13,79±4,53)

Таблиця 5. Показники кореляційного зв'язку дигідротестостерону та довжини CAG-повтору гена AR

Група	Кількість CAG-повторів ≤ 22		Кількість CAG-повторів >22	
	r	p (t)	r	p (t)
I	-0,78	p<0,05 (t=-5,42)	-0,96	p<0,05 (t=-9,18)
II	-0,89	p<0,05 (t=-4,59)	-0,95	p<0,05 (t=-14,12)
III	-0,77	p<0,05 (t=-6,85)	-0,97	p<0,05 (t=-8,84)
Група контролю	-0,98	p<0,05 (t=-9,27)	-0,57	p<0,05 (t=-3,40)

**Висновки.** За результатами проведеної роботи можна зробити висновок, що АГ, як супутня хвороба, негативно впливає на перебіг ЦД 2 типу в жінок у постменопаузний період, що виражається у більш вираженому підвищенні рівня ДГТ у венозній крові у групі хворих з коморбідною патологією, ніж у групі хворих на ЦД 2 типу.

Результати наших досліджень вказують на зв'язок між рівнем ДГТ у плазмі крові та кількістю CAG-повторів у жінок у постменопаузі. Ми спостерігали більш сильний кореляційний зв'язок між ДГТ і «довгими» алелями гена AR у групі з комор-

бідною патологією (АГ з ЦД 2 типу). Таким чином, наявність збільшеної кількості CAG-повторів у даному гені можна розцінювати як предиктор розвитку та прогресування артеріальної гіпертензії у жінок з ЦД 2 типу у постменопаузі та виокремити групу ризику з метою профілактики розвитку АГ у даної когорти жінок.

**Перспективи подальших досліджень.** Дослідження зв'язку кількості CAG-повторів гена AR з гормональним, біохімічним складом крові у жінок у ПМ дозволить виділити групу ризику з метою профілактики захворювань.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Електронний ресурс. World Health Organization Statistical Information System. 2009. Режим доступу: [www.who.int/whosis](http://www.who.int/whosis).

2. The DECODE study group on behalf of the European Diabetes Epidemiology Group. 1999. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetic Association diagnostic criteria. The DECODE study group on behalf of the European Diabetes Epidemiology Group. *Lancet*. –1999. – Vol. 354 (9179). – P. 617–621.

3. Ed. by Armen Yuri Gasparyan. 2012. Cardiovascular Risk Factors / Gender-Specific Aspects in the Clinical Presentation of Cardiovascular Disease. InTech: Chapter 14. – 2012. – 504 p.

4. Butov O. D. Association of interleukins genes polymorphisms with multi-drug resistant tuberculosis in Ukrainian population / O. D. Butov, M. M. Kuzhko, S. T. Butova //

*Pneumonologia i Alergologia Polska*. – 2016. – Vol. 84, No. 3. – P. 168–173.

5. Androgen Therapy in Women: An Endocrine Society Clinical Practice / M. E. Wierman, R. Basson, S. R. Davis, M. E. Wierman // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* – 2006. – Vol. 91 (10). – P. 3697–3716.

6. Калинченко С. Ю. Роль андрогенов у женщин: что мы знаем? / С. Ю. Калинченко, С. С. Апетов // *Леч врач.* – 2010. – № 8. – С. 78–83.

7. Gao W. Chemistry and structural biology of androgen receptor / W. Gao, C. E. Bohl, Y. T. Dalton // *Chem. Rev.* – 2005. – Vol. 105(9). – P. 3352–3370.

8. Gobinet J. Molecular action of androgens / J. Gobinet, N. Pujol, C. Sultan // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2002. – Vol. 198. – P. 15–24.

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему

9. Reduced androgen receptor gene expression with first exon CAG repeat expansion / C. S. Choong, J. A. Kempainen, Z. X. Zhou, E. M. Wilson // *Mol. Endocrinol.* – 1996. – Vol. 10, No. 12. – P. 1527–1535.
10. Effect of a short CAG (glutamine) repeat on human androgen receptor function / D. Ding, L. Xu, M. Menon [et al.] // *Prostate.* – 2004. – Vol. 58(1). – P. 23–32.
11. Formation of the androgen receptor transcription complex / Y. Shang, M. Myers, M. Brown // *Mol. Cell.* – 2002. – Vol. 9(3). – P. 601–610.
12. Gelmann E. P. Molecular biology of the androgen receptor / E. P. Gelmann // *J. Clin. Oncol.* – 2002. – Vol. 20(13). – P. 3001–3015.
13. Tsigos C. Management of obesity in adults: European clinical practice guidelines / C. Tsigos, V. Hainer, A. Basdevant // *Obesity Facts.* – 2008. – Vol. 1, No. 2. – P. 106–116.
14. Журавлева Л. В. Современная стратегия ведения пациентов с артериальной гипертензией / Л. В. Журавлева, Н. А. Лопина // *Здоров'я України.* – 2014. – № 1 (32). – С. 22–24.
15. Свіщенко Є. П. Рекомендації Української асоціації кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії : посібник до Національної програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії (4-е вид.) / Свіщенко Є. П., Багрій А. Е. – К. : ННЦ Інститут кардіології України ім. М. Д. Стражеска, 2012. – 53 с.
16. Лапач С. Н. Статистические методы в медикобиологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К. : Морион, 2000. – 320 с.

## CAG POLYMORPHISM RECEPTOR GENE ANDROGENS IN POSTMENOPAUSAL WOMEN WITH HYPERTENSION AND DIABETES

©T. S. Butova

*Kharkiv National Medical University*

**SUMMARY.** The aim of the work was to investigate the relationship between repetitions CAG- repeats *AR* gene and levels of dihydrotestosterone (DHT) in the serum of postmenopausal women (PM), with diabetes mellitus (DM) type 2 and hypertension (HT).

106 women in PM were divided into groups: the first included 30 patients with type 2 diabetes; the second – 34 patients with hypertension 2–3 grade; the 3rd – 42 patients with hypertension of –3 degree and type 2 diabetes, the control group – 31 women. All women ELISA method DHT levels measured in serum isolated genomic DNA from white blood cells, were identified number of repetitions CAG- repeats *AR* gene PCR.

CAG-repeats were observed in 96 (70.07 ± 3.91 %) of 137 cases. The minimum number of CAG-repeats equal to 14 maximum – 28 *AR* gene allele prevalence was significantly different depending on the groups of patients. To determine the influence of gene polymorphisms *AR* at risk of developing the disease was a comparative analysis of long alleles between groups monitoring via indicator SBM. For critical number of CAG-repeats were taken 22 repetitions. Among indicators of DHT in serum and CAG-repeats in the *AR* gene observed groups of women observed a direct correlation.

AG as concomitant disease, adversely affect the course of type 2 diabetes in women PM, resulting in greater levels of DHT increase in venous blood in patients with comorbid disorders than in patients with type 2 diabetes.

The relation between the level of DHT in the blood plasma and the number of CAG-repeats in PM women, a strong correlation was between DHT and "long" alleles *AR* gene in the group with comorbid disorders (hypertension with type 2 diabetes). The presence of increased number of CAG-repeats in *AR* gene can be regarded as a predictor of the development and progression of hypertension in women with type 2 diabetes in PM.

**KEY WORDS:** hypertension, diabetes, polymorphism gene *AR*, DHT, menopause.

Отримано 5.08.2016