

Абатуров О.Є.<sup>1</sup>, Досенко В.Є.<sup>2</sup>, Нікуліна А.О.<sup>1</sup><sup>1</sup>ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро, Україна<sup>2</sup>Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, м. Київ, Україна

## Експресія мРНК галектину-9 при ожирінні у дітей з поліморфізмами гена лактази

**Резюме. Мета.** Вивчення асоціації експресії мРНК галектину-9 (*Gal-9*) та мальабсорбції лактози при ожирінні у дітей з поліморфізмами (*SNP*) гена лактази (*LCT*) та дослідження ефективності лікування лактазної недостатності з використанням препаратів екзогенної лактази. **Матеріали та методи.** Обстежено 70 дітей з ожирінням (індекс маси тіла > 95-го перцентилія), а також 16 дітей без ожиріння віком 6–18 років. Визначено *SNP LCT* (матеріал для дослідження — венозна кров) методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі, експресії мРНК *Gal-9* (матеріал для дослідження — букальний епітелій) методом ПЛР у реальному часі зі зворотною транскрипцією, дослідження мальабсорбції лактози за допомогою водневого дихального тесту. Серед дітей з ожирінням першу групу спостереження становили 38 дітей з генотипом С/С 13910, другу групу — 32 дитини з фенотипово ідентичними генотипами С/Т 13910 та Т/Т 13910,  $p > 0,05$ . У дітей з першої групи спостереження також визначався рівень експресії мРНК *Gal-9* та мальабсорбції лактози після використання препаратів екзогенної лактази. **Результати.** Генотип С/С 13910 реєструвався у 38 (54,3 %) дітей з генотипом С/Т 13910 — у 22 (31,4 %), генотип Т/Т — у 10 (14,3 %) пацієнтів. Мальабсорбція лактози у дітей з генотипом С/С 13910 становила в середньому  $32,7 \pm 10,4$  ртт, у дітей з генотипами С/Т 13910 —  $26,3 \pm 4,9$  ртт ( $p > 0,05$ ), при генотипі Т/Т 13910 та у дітей без ожиріння була відсутня ( $p < 0,05$ ). Середній рівень експресії мРНК *Gal-9* у дітей з генотипом С/С 13910 дорівнював  $564,3 \pm 32,8$  УО  $\Delta mRNA Gal-9/mRNA actin$ , у дітей з генотипами С/Т і Т/Т 13910 —  $61,04 \pm 15,30$  УО  $\Delta mRNA Gal-9/mRNA actin$ ,  $p < 0,01$ . Важливим є той факт, що в підгрупі дітей з генотипом С/С 13910 і мальабсорбцією лактози ( $n = 20$ ) зареєстрований найнижчий середній рівень експресії мРНК *Gal-9* ( $42,47 \pm 13,30$  УО  $\Delta mRNA Gal-9/mRNA actin$ ), тоді як у підгрупі дітей з генотипом С/С 13910 без мальабсорбції лактози ( $n = 18$ ) — найвищий ( $1086,73 \pm 52,60$  УО  $\Delta mRNA Gal-9/mRNA actin$ ), що перебільшив рівень експресії мРНК *Gal-9* у дітей без ожиріння та мальабсорбції лактози ( $313,34 \pm 19,70$  УО  $\Delta mRNA Gal-9/mRNA actin$ ),  $p < 0,01$ . Після використання препаратів екзогенної лактази у дітей з генотипом С/С 13910 та мальабсорбцією лактози протягом 1 місяця рівень експресії мРНК *Gal-9* наблизився до рівня  $246,21 \pm 15,70$  УО  $\Delta mRNA Gal-9/mRNA actin$ , тоді як при використанні лише низьколактозної дієти збільшився незначно — до  $58,72 \pm 21,10$  УО  $\Delta mRNA Gal-9/mRNA actin$ ,  $p < 0,01$ . Цікаво, що у дітей з генотипом С/С 13910 без мальабсорбції лактози на фоні низьколактозної дієти рівень експресії мРНК *Gal-9* знизився до рівня  $388,38 \pm 20,40$  УО  $\Delta mRNA Gal-9/mRNA actin$ , наблизившись до рівня здорових дітей без ожиріння. **Висновки.** У дітей з генотипом С/С 13910 рівень експресії мРНК *Gal-9* залежить від мальабсорбції лактози, яка потребує замісної терапії, що поєднує низьколактозну дієту та використання препаратів екзогенної лактази. За відсутності мальабсорбції лактози використання лише низьколактозної дієти у дітей з генотипом С/С 13910 наближає рівень експресії мРНК *Gal-9* до рівня здорових дітей без ожиріння.

**Ключові слова:** галектин-9; ожиріння; діти; лактазна недостатність; лактаза; мальабсорбція лактози

## Вступ

Пандемічність поширення ожиріння в світі потребує з'ясування молекулярно-генетичних предикторів ризику, що сприяють формуванню ускладненого перебігу захворювання, починаючи з дитячого віку. Ожиріння, формуючись в дитинстві, посідає провідне місце в структурі неінфекційних захворювань серед дорослого населення в Європейському регіоні, що зумовлюють 86 % передчасної летальності від асоційованих серцево-судинних захворювань, раку, цукрового діабету 2-го типу [19, 21].

Ініціатива Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) з епідагляду за ожирінням в Європі (COSI) показала, що в середньому кожна третя дитина віком 6–9 років страждає від надмірної ваги чи ожиріння з поширеністю серед хлопчиків — 20,4 % і серед дівчаток — 19,4 % [9, 20].

Первинний дефіцит синтезу ферменту лактази є найбільш поширеним генетичним захворюванням у світі, асоціюється з лактазною недостатністю (ЛН) дорослого типу та зазвичай мальабсорбцією лактози [7]. В європейській популяції ЛН дорослого типу пов'язана з генотипом С/С 13910 та зумовлює певні метаболічні порушення, включаючи високу поширеність надмірної ваги та ожиріння [1–3, 15].

Персистенція лактази, що асоціюється з фенотипово схожими генотипами С/Т та Т/Т-13910, успадковується як домінуюча менделівська риса, що виникла близько 10 000 років тому серед племен Північної Європи, що займалися скотарством, та зумовила 100-відсотковий рівень експресії лактази протягом дорослого життя [12, 16, 17]. У наш час максимальна частота зустрічальності лактазної персистенції понад 90 % виявляється саме серед населення північноєвропейських країн (Скандинавії та Нідерландів), мінімальна зустрічальність алелі Т-13910 менше ніж 50 % представлена серед населення Південної Європи (Італії та Іспанії). Цікавим є факт, що найнижчий рівень поширеності надлишкової ваги та ожиріння в Європейському регіоні реєструється в скандинавській Норвегії і становить серед дітей віком 7–8 років 15 % (у хлопчиків — 13,5 %, у дівчаток — 17,8 %), найвищий рівень виявляється в Італії, що дорівнює 36 % (серед хлопчиків — 37,2 %, серед дівчаток — 34,7 %) [22].

Клінічно підтверджена мальабсорбція лактози викликає специфічну деескалацію експресії мРНК галектину-9 (Gal-9) — регулятора транспорту глюкози й уратів, основного ліганду для фагоцитарного рецептора Т-клітинного апоптозу Tim-3 (Т-клітинний імуноглобулін і домен 3 мучину) [11, 13].

Встановлено, що Gal-9, взаємодіючи з рецептором Tim-3, проявляє плейотропну імунну активність. Рецептор Tim-3 після зв'язування з Gal-9 індукує апоптоз Th1-клітин [10]. У стані спокою інтрацелюлярний домен рецептора Tim-3 знаходиться у зв'язаному стані з протеїном Bat3. Після взаємодії Tim-3 з Gal-9 протеїн Bat3 дисоціює від інтрадомена рецептора Tim-3, і активація внутрішньоклітинних

сигнальних шляхів призводить до модуляції виробництва IFN- $\gamma$  і проліферації Т-клітин [17].

Внутрішньоклітинний Gal-9 внаслідок *цис*-взаємодії з Tim-3, при синергічній стимуляції TLR, активно транслокується в клітинне ядро, потім, зв'язуючись з фактором транскрипції NF-IL6, індукує транскрипцію прозапальних цитокінів IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  і IFN- $\gamma$  [15].

Внутрішньоклітинно розташований Gal-9 також інгібує фосфорилування STAT3, що призводить до збільшення транскрипції гена IL-12 і зниження транскрипції гена IL-23. Крім того, внутрішньоклітинно розташований Gal-9 знижує рівень експресії Tim-3 на клітинній поверхні за допомогою двох механізмів: *цис*-асоціації/інтерналізації STAT3-незалежного шляху і пригнічення T-bet (T-box expressed in T-cells) — транскрипційного фактора Т-хелперів 1-го типу [13].

Позаклітинний солютабний Gal-9 проявляє цитокіноподібний і проапоптотичний ефект, пов'язаний з *транс*-асоціацією з Tim-3-експресуючими клітинами [5, 11].

При цьому відбувається фосфорилування тирозинового залишку (Y265) ендодомена Tim3-SH2 інтерлейкін-індукованою Т-клітинною кіназою (ITK-SH2). В подальшому відзначено зниження фосфорилування транскрипційного фактора STAT1, який забезпечує синтез IL-12 — фактора дозрівання цитотоксичних лімфоцитів. Одночасно активується фактор транскрипції STAT3, який індукує ген IL-23, що призводить до проліферації Т-регуляторних клітин (Treg, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) та індукції апоптозу Th1- і Th17-клітин. Природні регулюючі Т-клітини експресують поверхневий маркер CD25 і продукт транскрипції гена — репресора Foxp3 (forkhead бокс Р3). CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg-клітини мають потужну природну імуносупресуючу дію. Вони *in vitro* і *in vivo* можуть пригнічувати активізацію, проліферацію й ефекторні функції CD4<sup>+</sup> і CD8<sup>+</sup> Т-клітин, натуральних кілерів (NK) і натуральних кілерних Т-клітин (NKT), В- і антиген-презентуючих клітин (APC). Апоптоз Th1-клітин призводить до зниження вироблення цитокінів: IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-3, IL-12, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , лімфотоксину, забезпечуючи протизапальний ефект. Апоптоз Th17-клітин викликає, відповідно, зниження синтезу IL-6, IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22, IL-23, TNF- $\beta$ , обумовлюючи гальмування автоімунного процесу [18]. Отже, солютабний Gal-9 забезпечує системну супресивну дію. Зважаючи на те, що при генотипі С/С 13910 не завжди клінічно підтверджується мальабсорбція лактози за допомогою водневого дихального тесту, а можлива і відносна фізіологічна компенсація абсорбції лактози, що певним чином залежить від віку, добової кількості спожитої лактози, стану кишкового мікробіому, ми припускаємо, що в цьому випадку відзначається гіперсекреція Gal-9, що і забезпечує імунологічну толерантність у вигляді відсутності прозапальної імунної відповіді [6, 14].

У свою чергу, наявність мальабсорбції лактози можна розглядати як клінічну маніфестацію ЛН дорослого типу, пов'язану з порушенням відносних компенсаторних механізмів і гальмуванням надлишком лактози проапоптичних сигнальних шляхів, зумовлених специфічною деескалацією експресії мРНК солютабного Gal-9.

**Мета:** вивчити асоціацію експресії мРНК Gal-9 та мальабсорбції лактози при ожирінні у дітей з поліморфізмами (SNP) гена лактази (*LCT*) та дослідити ефективність лікування лактазної недостатності з використанням препаратів екзогенної лактази.

## Матеріали та методи

На базі ендокринологічного відділення КЗ «Дніпропетровська МДКЛ № 1» ДОР» обстежено 70 дітей з ожирінням (ІМТ > 95-го перцентилу), а також 16 дітей без ожиріння віком 6–18 років.

Молекулярно-генетичні дослідження включали визначення SNP *LCT* у венозній крові та експресії мРНК Gal-9 у букальному епітелії. Визначення наявності поліморфізмів у гені лактази проводилось у сертифікованій лабораторії «Sinevo» за допомогою полімеразної ланцюгової реакції з детекцією результатів у режимі реального часу (ПЛР-РЧ). Як аналізатор використовувався детектор «ДТ-96», тест-системи «ДНК-Технологія» (РФ).

Дослідження експресії мРНК Gal-9 у букальному епітелії було проведено в сертифікованій лабораторії відділу загальної і молекулярної патофізіології Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України (директор — професор О.О. Кришталь) методом ПЛР-РЧ зі зворотною транскрипцією згідно з протоколом TaqMan Gene Expression Assays і включало такі етапи:

— *Виділення мРНК Gal-9 з первинного матеріалу.*

Забір букального епітелію проводився з використанням букальних щіток із подальшим заморожуванням зразків та їх зберіганням при температурі 20 °С. Виділення мРНК виконувалося за допомогою реагентів Trizol RNA Prep 100 («Лабораторія Ізоген», РФ), згідно з протоколом виробника, за рахунок використання Trizol реагенту з гуанідинсукцинатом фенолом, який призначався для лізису клітин, солюбілізації клітинного дебрису, денатурації клітинних нуклеаз, а також для видалення білків і ДНК.

— *Преампліфікація (підготовка праймерів із мРНК).*

Змішували мРНК, 5-кратний гексамерний праймер довільної послідовності SO142 Hexamer Random (Thermo Scientific, США) та деіонізовану воду. Первинна денатурація тривала 5 хвилин (хв) при температурі 70 °С у термоциклері GeneAmp PCR System 2700 (Applied Biosystems, США).

— *Зворотна транскрипція.*

Зворотну транскрипцію (ЗТ) виконували з використанням гексамерного праймера, застосовуючи виділену мРНК і зворотну транскриптазу RevertAid Reverse transcriptase (Thermo Scientific, США). Повний цикл тривав 80 хв у термоциклері GeneAmp

PCR System 2700 (Thermo Scientific, США) в такій послідовності: 10 хв — 25 °С, 60 хв — 42 °С, 10 хв — 70 °С. Отриману внаслідок ЗТ одноланцюгову клоновану ДНК (кДНК) використовували для кількісної оцінки експресії генів з використанням ПЛР-РЧ із застосуванням праймерів для відповідних генів (Набір TagMan Gene Expression Assay FAM (4448892) Assay ID Hs04190742\_mH (LGALS9), набір TagMan β-актин Control Reagent). Експресію генів стандартизували відносно експресії гена β-актину як ендогенного контролю (одного з так званих Housekeeping gene або генів домашнього господарства). ПЛР-ампліфікація генів проводилась з використанням TaqMan PCR Master Mix, що містив однакову кількість кожного праймера.

— *Ампліфікація.*

Ампліфікацію здійснювали за допомогою термоциклера «7500 Fast Real-Time PCR System» (Applied Biosystems, США) протягом 42 хв. Програма ампліфікації починалася з попередньої активації AmpliTaq Gold® ДНК-полімерази протягом 10 хв. при 95 °С та включала 45 циклів, кожен з яких складався з денатурації при 95 °С (19 с), приєднання праймерів та елонгації при 58 °С (1 хв). Для контролю специфічності проводили стадію дисоціації — послідовне підвищення температури від 58 до 95 °С із реєстрацією зниження інтенсивності флуоресценції комплексів дволанцюгових ДНК із SYBR Green. Аналіз даних проводився з 7500 Fast Real-Time PCR Software. Визначали відносний рівень експресії генів із застосуванням загальноприйнятої методики (рівень експресії =  $2^{-\Delta Ct}$ , де Ct — пороговий цикл ампліфікації) та отримували графічне зображення експресії основного та контрольного гена (рис. 1).

Інструментальні дослідження включали визначення рівня мальабсорбції лактози за допомогою водневого дихального тесту з навантаженням лактозою (з розрахунку 1 г/кг, але не більше 25 г лактози у вигляді 10% водного розчину) в ДЗ «Інститут гастроентерології» НАМН України (директор Ю.М. Степанов) за допомогою газоаналізатора Gastro + Gastrolyser британської компанії Bedfont Scientific Ltd. Вміст водню визначався в мільйонних частках — parts per million (ppm). Позитивним вважався тест при збільшенні рівня водню в повітрі, що видихається, через 60 хв більше ніж на 20 ppm порівняно з базальним рівнем і появою клінічних симптомів лактазної недостатності протягом трьох подальших годин спостереження.

Діти віком 6–18 років із різними SNP *LCT* та ожирінням становили основну групу спостереження (n = 70), тоді як діти без ожиріння — контрольну групу (n = 16). Залежно від результатів генотипування спочатку всі діти з ожирінням були розподілені на 3 групи спостереження: з генотипом С/С 13910 (n = 38), генотипом С/Т 13910 (n = 22) та генотипом Т/Т 13910 (n = 10), з подальшим об'єднанням дітей із фенотипово схожими генотипами С/Т та Т/Т 13910 в групу дітей з лактазною персистенцією. В той час як група дітей з генотипом С/С 13910 за-

лежно від рівня мальабсорбції лактози асоціювалась з ЛН дорослого типу.

На подальшому етапі дослідження всіх дітей з генотипом С/С 13910 за результатом водневого дихального тесту з навантаженням лактозою розподілили на 2 підгрупи, репрезентативні за віком (13,7) та статтю (51 % хлопчиків): мальабсорберів ( $n = 20$ ) та абсорберів лактози ( $n = 18$ ). Всім пацієнтам з ожирінням була призначена терапія основного захворювання згідно з вітчизняним протоколом зі спеціальності «дитяча ендокринологія» за наказом МОЗ України № 254 від 27.04.2006 р. Додатково дітям з генотипом С/С 13910 з 1-го дня лікування була призначена низьколактозна дієта за допомогою створеної нами комп'ютерної програми «Low-lactose diet» та додатково рандомізовано обраним 10 дітям, мальабсорберам лактози, препарат екзогенної лактази протягом 1 місяця по 3000 МО тричі на добу [4].

Ефективність різних типів лікування оцінювалась за результатами дослідження експресії мРНК Gal-9 у дітей до та після лікування в зазначених групах.

Для статистичної обробки результатів дослідження використовувались методи варіаційної статистики за допомогою пакета комп'ютерних програм Microsoft Office Excel 2009, адаптованого

для медико-біологічних досліджень. Параметричні методи статистики з розрахунком середньої арифметичної величини ( $M$ ) та похибки репрезентативності середньої величини ( $m$ ) застосовувались за умови нормального розподілу величин. Різниця параметрів при порівнянні кількісних показників із нормальним розподілом вважалася статистично значущою за критерієм Стьюдента при  $p < 0,05$ .

## Результати та обговорення

Генотип С/С 13910 реєструвався у 38 (54,3 %), генотип С/Т 13910 у 22 (31,4 %) і генотип Т/Т у 10 (14,3 %) пацієнтів.

Мальабсорбція лактози у дітей з генотипом С/С 13910 становила в середньому  $32,7 \pm 10,4$  рмм, у дітей з генотипами С/Т 13910 —  $26,3 \pm 4,9$  рмм ( $p > 0,05$ ) і при генотипі Т/Т 13910 та у дітей без ожиріння була відсутня ( $p < 0,05$ ).

Середній рівень експресії мРНК Gal-9 у дітей з генотипом С/С 13910 дорівнював  $564,3 \pm 32,8$  УО  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin, у дітей з генотипами С/Т і Т/Т 13910 —  $61,04 \pm 15,3$  УО  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin,  $p < 0,01$  (табл. 1).

Важливим є той факт, що в підгрупі дітей з генотипом С/С 13910 і мальабсорбцією лактози ( $n = 20$ ) зареєстровано найнижчий середній рівень експресії мРНК Gal-9 ( $42,47 \pm 13,30$  УО  $\Delta$ mRNA Gal-9/

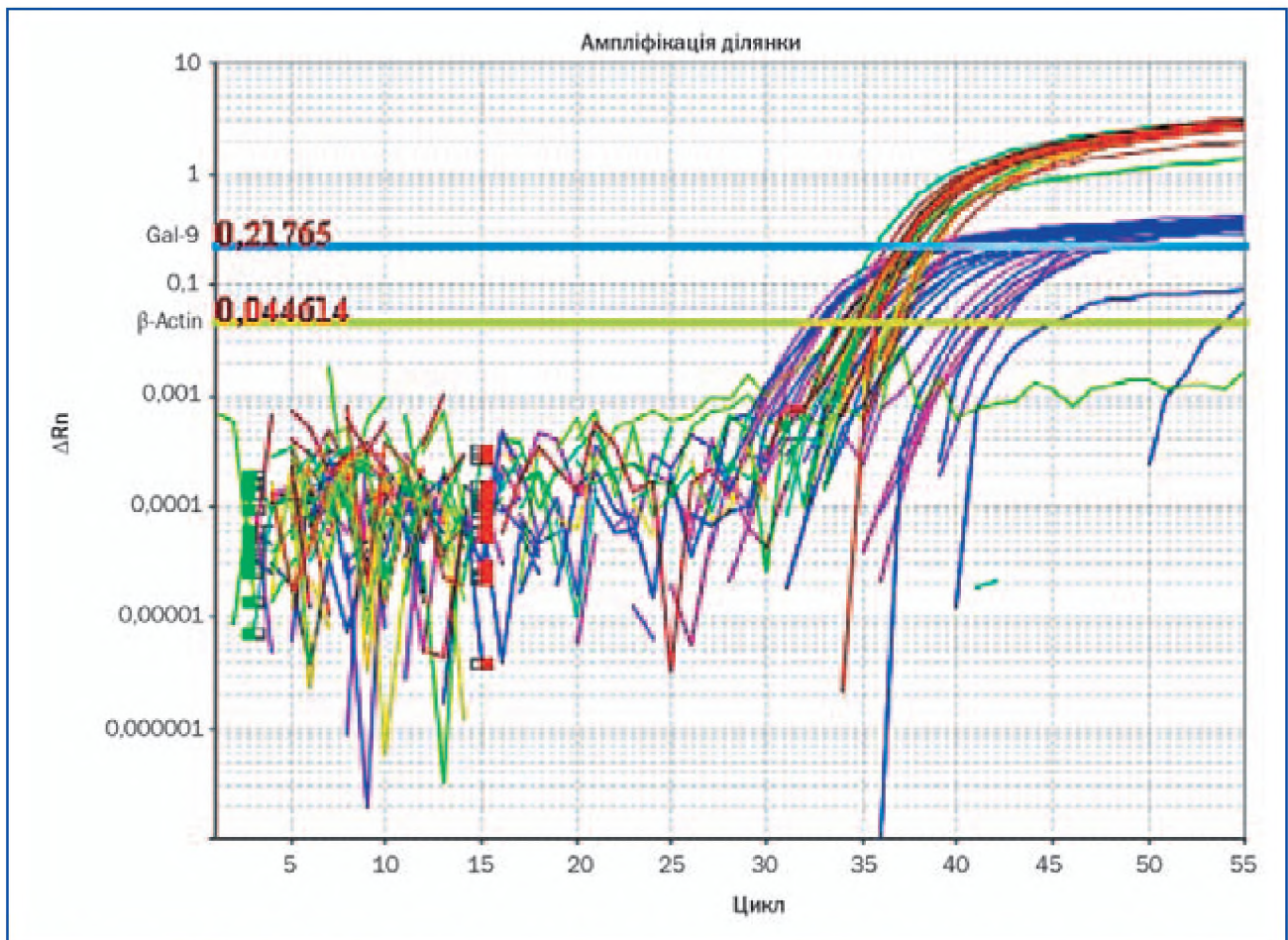


Рисунок 1. Графічне зображення експресії основного гена Gal-9 та контрольного гена β-актину

**Таблиця 1. Рівні експресії мРНК Gal-9 в групах, які досліджуються, залежно від SNP LCT до та після лікування**

Група спостереження	Рівень експресії мРНК Gal-9 до лікування, УО $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin	Рівень експресії мРНК Gal-9 після лікування, УО $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin	P
Діти з генотипом С/С 13910 та мальабсорбцією лактози (n = 20)	42,47 ± 13,30	232,86 ± 45,20	< 0,01
Діти з генотипом С/С 13910 без мальабсорбції лактози (n = 18)	1086,73 ± 52,60	388,38 ± 20,40	< 0,01
Діти з генотипом С/Т 13910 та Т/Т 13910 (n = 32)	61,04 ± 15,30	–	–
Здорові діти (n = 16)	313,34 ± 19,70	–	–

mRNA actin), тоді як у підгрупі дітей з генотипом С/С 13910 без мальабсорбції лактози (n = 18) — найвищий (1086,73 ± 52,60 УО  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin), що перебільшив рівень експресії мРНК Gal-9 у дітей без ожиріння та мальабсорбції лактози (313,34 ± 19,70 УО  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin), p < 0,01. Після використання препаратів екзогенної лактази у дітей з генотипом С/С 13910 та мальабсорбцією лактози протягом одного місяця рівень експресії мРНК Gal-9 наблизився до рівня 246,21 ± 15,70 УО  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin, тоді як при використанні лише низьколактозної дієти збільшився незначно — до 58,72 ± 21,10 УО  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin, p < 0,01. Цікаво, що у дітей з генотипом С/С 13910 без мальабсорбції лактози на фоні низьколактозної дієти рівень експресії мРНК Gal-9 знизився до рівня 388,38 ± 20,40 УО  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin, наблизившись до рівня здорових дітей без ожиріння.

## Висновки

Надлишок лактози в дієті дитини викликає мальабсорбцію лактози, інгібує сигнальний шлях Gal-9/Tim-3 та сприяє прозапальному типу імунної відповіді на позаклітинному рівні.

У дітей з генотипом С/С 13910 рівень експресії мРНК Gal-9 залежить від мальабсорбції лактози, яка потребує замісної терапії, що поєднує низьколактозну дієту та використання препаратів екзогенної лактази.

За відсутності мальабсорбції лактози, використання лише низьколактозної дієти у дітей з генотипом С/С 13910 наближає рівень гіперекспресії мРНК Gal-9 до рівня здорових дітей без ожиріння.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

## Список літератури

1. Абатуров О.Є. Асоціація однонуклеотидного поліморфізму гена лактази з інсулінорезистентністю у дітей / О.Є. Абатуров, А.О. Нікуліна // Сучасні медичні технології. 2016; 4(31): 33-36.
2. Абатуров О.Є. Асоціація однонуклеотидного поліморфізму гена лактази з дисліпотеїдемією при ожирінні у дітей /

О.Є. Абатуров, А.О. Нікуліна // Современная педиатрия. 2017; 2(82): 118-121. doi: 10.15574/SP.2017.82.118.

3. Абатуров О.Є. Молекулярно-генетична концепція формування психотипів особистості у дітей при ожирінні, асоційованому з лактозною інтолерантністю / О.Є. Абатуров, А.О. Нікуліна // Здоров'я ребенка. 2017; 4 (12); 17-22. doi: 10.22141/2224-0551.12.4.2017.1076222.

4. Абатуров О.Є. Дієтотерапія при ожирінні у дітей, асоційованому з лактазною недостатністю дорослого типу / О.Є. Абатуров, А.О. Нікуліна, Д.В. Логвінов, П.О. Колбасін // Здоров'я ребенка. 2017; 12(6): 657-662; doi: 10.22141/2224-0551.12.6.2017.112833.

5. De Kivit S. Galectin-9 Produced by Intestinal Epithelial Cells Enhances Aldehyde Dehydrogenase Activity in Dendritic Cells in a PI3K- and p38-Dependent Manner / S. Kivit, A.I. Kostadinova et al. // J. Innate Immun. 2017; 9(6): 609-620. doi: 10.1159/000479817. Epub 2017 Sep 9.

6. De Kivit S. Intestinal Epithelium-Derived Galectin-9 Is Involved in the Immunomodulating Effects of Nondigestible Oligosaccharides / de Kivit S., Kraneveld A.D., Knippels L.M.J. et al. // J. Innate Immun. 2013; 5: 625-638. doi: 10.1159/000350515.

7. Deng Y. Lactose Intolerance in Adults: Biological Mechanism and Dietary Management / Y. Deng, B. Misselwitz, N. Dai, M. Fox // Nutrients. 2015 Sep; 7(9): 8020-8035. Published online 2015 Sep 18. doi: 10.3390/nu7095380.

8. Han G. Tim-3: an activation marker and activation limiter of innate immune cells / G. Han, G. Chen, B. Shen, Y. Li // Front Immunol. 2013 Dec 10; 4: 449. doi: 10.3389/fimmu.2013.00449.

9. International Association for the Study of Obesity. Online database of national prevalence data from published national surveys [Electronic resource] / IASO // London. 2014. Access mode: [http://www.iaso.org/site\\_media/library/resource\\_images/Global\\_Childhood\\_Overweight\\_October\\_2013.pdf](http://www.iaso.org/site_media/library/resource_images/Global_Childhood_Overweight_October_2013.pdf)

10. Jacobs J. Immune Checkpoint Modulation in Colorectal Cancer: What's New and What to Expect / J. Jacobs, E. Smits, F. Lardon et al // J. Immunol. Res. 2015; 2015: 158038. doi: 10.1155/2015/158038.

11. Lhuillier C. Impact of exogenous galectin-9 on human T cells: contribution of the T cell receptor complex to antigen-independent activation but not to apoptosis induction / C. Lhuillier, C. Barjon, T. Niki, A. Gelin et al. // J. Biol. Chem. 2015 May 6; pii: jbc.M115.661272.

12. Liebert A. World-wide distributions of lactase persistence alleles and the complex effects of recombination and selection / A. Liebert, S. Lopez, B.L. Jones et al. // Hum. Genet. 2017 Nov; 136(11-12): 1445-1453. doi: 10.1007/s00439-017-1847-y. Epub 2017 Oct 23.

13. Ma C.J. Cis-Association of Galectin-9 with Tim-3 Differentially Regulates IL-12/IL-23 Expressions in Monocytes via TLR Signaling / C.J. Ma, G.Y. Li, Y.Q. Cheng et al. // PLoS One. 2013 Aug 14; 8(8): e72488. doi: 10.1371/journal.pone.0072488. eCollection 2013.

14. Misselwitz B. What is normal and abnormal in lactose digestion? / Misselwitz B., Fox M. // The Lancet Gastroenterology & Hepatology. Available online 7 July 2017. doi.org/10.1016/S2468-1253(17)30180-2.

15. Paasela M. Lactose inhibits regulatory T-cell-mediated suppression of effector T-cell interferon- $\gamma$  and IL-17 production / M. Paasela, K.-L. Kolho, O. Vaarala et al. // *British Journal of Nutrition*. 2014; 112(11): 1819-1825.
16. Prentice A.M. Dairy products in global public health // *Am. J. Clin. Nutr.* 2014 May; 99(5 Suppl): 1212S-6S. doi: 10.3945/ajcn.113.073437.
17. Ridefelt P. Lactose intolerance: Lactose tolerance test versus genotyping / P. Ridefelt, L.D. Hakansson // *Scand. J. Gastroenterol.* 2005; 40: 822-826. doi: 10.1080/00365520510015764.
18. Sakuishi K. Emerging Tim-3 functions in antimicrobial and tumor immunity / K. Sakuishi, P. Jayaraman, S.M. Behar, A.C. Anderson et al. // *Trends Immunol.* 2011 Aug; 32(8): 345-9. doi: 10.1016/j.it.2011.05.003.
19. Styne D.M. *Pediatric Obesity-Assessment, Treatment, and Prevention: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline.*
- D.M. Styne, S.A. Arslanian, E.L. Connor et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2017 Mar 1; 102(3): 709-757. doi: 10.1210/jc.2016-2573.
20. WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative (COSI) [Electronic resource] / WHO // Geneve. 2014. Access mode: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/activities/monitoring-and-surveillance/who-european-childhood-obesity-surveillance-initiative-cosi>.
21. WHO: Global Action Plan for the Prevention and Control of NCDs 2013-2020 [Electronic resource] / WHO // Geneve. 2013. Access mode: [http://www.who.int/nmh/events/ncd\\_action\\_plan/en/](http://www.who.int/nmh/events/ncd_action_plan/en/).
22. Wijnhoven T.M. WHO European Childhood Obesity Surveillance Initiative 2008: weight, height and body mass index in 6-9-year-old children/ T.M. Wijnhoven, J.M. van Raaij, A. Spinelli et al. // *Pediatr. Obes.* 2013; 8: 79-97.

Отримано 18.01.2018 ■

Абатуров А.Е.<sup>1</sup>, Досенко В.Е.<sup>2</sup>, Никулина А.А.<sup>1</sup><sup>1</sup>ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днепр, Украина<sup>2</sup>Институт физиологии им. А.А. Богомольца НАН Украины, г. Киев, Украина**Експресія мРНК галектина-9 при ожиренні у дітей з поліморфізмами гена лактази**

**Резюме.** Цель. Изучение ассоциации экспрессии мРНК галектина-9 (Gal-9) и мальабсорбции лактозы при ожирении у детей с полиморфизмами (SNP) гена лактазы (LCT) и исследование эффективности лечения лактазной недостаточности с использованием препаратов экзогенной лактазы. **Материалы и методы.** Обследованы 70 детей с ожирением (индекс массы тела > 95-го перцентиля), а также 16 детей без ожирения в возрасте 6–18 лет. Определен SNP LCT (материал для исследования — венозная кровь) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, экспрессии мРНК Gal-9 (материал для исследования — буккальный эпителий) методом ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией, исследование мальабсорбции лактозы с помощью водородного дыхательного теста. Среди детей с ожирением первую группу наблюдения составили 38 детей с генотипом С/С 13910, вторую группу — 32 ребенка с фенотипически идентичными генотипами С/Т 13910 и Т/Т 13910,  $p > 0,05$ . У детей из первой группы наблюдения также определялся уровень экспрессии мРНК Gal-9 и мальабсорбции лактозы после использования препаратов экзогенной лактазы. **Результаты.** Генотип С/С 13910 регистрировался у 38 (54,3%), генотип С/Т 13910 — у 22 (31,4%) и генотип Т/Т — у 10 (14,3%) пациентов. Мальабсорбция лактозы у детей с генотипом С/С 13910 составила в среднем  $32,7 \pm 10,4$  рмм, у детей с генотипами С/Т 13910 —  $26,3 \pm 4,9$  рмм ( $p > 0,05$ ), а при генотипе Т/Т 13910 и у детей без ожирения — отсутствовала ( $p < 0,05$ ). Средний уровень экспрессии мРНК Gal-9 у детей с генотипом С/С 13910 составил  $564,3 \pm 32,8$  УЕ  $\Delta mRNA$  Gal-9/mRNA actin, у детей с генотипами С/Т и Т/Т 13910 —  $61,04 \pm 15,30$  УО  $\Delta mRNA$  Gal-9/mRNA actin,

$p < 0,01$ . Важным является тот факт, что в подгруппе детей с генотипом С/С 13910 и мальабсорбцией лактозы ( $n = 20$ ) зарегистрирован самый низкий средний уровень экспрессии мРНК Gal-9 ( $42,47 \pm 13,30$  УЕ  $\Delta mRNA$  Gal-9/mRNA actin), тогда как в подгруппе детей с генотипом С/С 13910 и без мальабсорбции лактозы ( $n = 18$ ) — самый высокий ( $1086,73 \pm 52,60$  УЕ  $\Delta mRNA$  Gal-9/mRNA actin), превысивший уровень экспрессии мРНК Gal-9 у детей без ожирения и мальабсорбции лактозы ( $313,34 \pm 19,70$  УЕ  $\Delta mRNA$  Gal-9/mRNA actin),  $p < 0,01$ . После использования препаратов экзогенной лактазы у детей с генотипом С/С 13910 и мальабсорбцией лактозы в течение 1 месяца уровень экспрессии мРНК Gal-9 составил  $246,21 \pm 15,70$  УО  $\Delta mRNA$  Gal-9/mRNA actin, тогда как при использовании только низколактозной диеты незначительно увеличился до  $58,72 \pm 21,10$  УЕ  $\Delta mRNA$  Gal-9/mRNA actin,  $p < 0,01$ . Интересно также, что у детей с генотипом С/С 13910 без мальабсорбции лактозы на фоне низколактозной диеты уровень экспрессии мРНК Gal-9 снизился до уровня  $388,38 \pm 20,40$  УО  $\Delta mRNA$  Gal-9/mRNA actin, приблизившись к уровню здоровых детей без ожирения. **Выводы.** У детей с генотипом С/С 13910 уровень экспрессии мРНК Gal-9 зависит от мальабсорбции лактозы, которая требует заместительной терапии, сочетающей низколактозную диету и использование препаратов экзогенной лактазы. При отсутствии мальабсорбции лактозы использование только низколактозной диеты у детей с генотипом С/С 13910 приближает уровень экспрессии мРНК Gal-9 к уровню здоровых детей без ожирения.

**Ключевые слова:** галектин-9; ожирение; дети; лактаза; лактазная недостаточность; мальабсорбция лактозы

А.Е. Abaturov<sup>1</sup>, В.Е. Dosenko<sup>2</sup>, А.А. Nikulina<sup>1</sup><sup>1</sup>State Institution "Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine<sup>2</sup>Bogomolets Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine**Expression of galectin-9 mRNA in obese children with polymorphism of the lactase gene**

**Abstract. Background.** The aim of the study is to investigate the association of expression of galectin-9 (Gal-9) mRNA and lactose malabsorption in obese children with polymorphism (SNP) of the lactase gene (LCT) and to study the efficacy of lactase deficiency therapy using exogenous lactase preparations. **Materials and methods.** Seventy obese children (BMI > 95<sup>th</sup>

percentile) and 16 children without obesity aged 6–18 years were examined. There was studied SNP LCT (material for investigation venous blood) by real-time PCR, expression of Gal-9 mRNA (study material buccal epithelium) by real-time PCR with reverse transcription, malabsorption of lactose by hydrogen breath test (HBT). Among obese children, 38 chil-

dren with genotype C/C 13910 presented the first observation group, 32 children with phenotype identical genotypes C/T 13910 and T/T 13910,  $p > 0.05$ , presented the second group. Children from the first observation group also determined the level of expression of Gal-9 mRNA and lactose malabsorption after using exogenous lactase preparations. **Results.** The genotype C/C 13910 was determined in 38 (54.3 %), genotype C/T 13910 in 22 (31.4 %) and genotype T/T in 10 (14.3 %) patients. Malabsorption of lactose in children with genotype C/C 13910 averaged  $32.7 \pm 10.4$  pmm, in children with genotypes C/T 13910 —  $26.3 \pm 4.9$  pmm ( $p > 0.05$ ) and with genotype T/T 13910 and was absent in children without obesity ( $p < 0.05$ ). The average level of expression of Gal-9 mRNA in children with genotype C/C 13910 was  $564.3 \pm 32.8$  RU  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin, in children with genotypes C/T and T/T 13910 —  $61.04 \pm 15.30$  RU  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin,  $p < 0.01$ . It is of great importance that the children with genotype C/C 13910 and lactose malabsorption ( $n = 20$ ) had the lowest average level of expression of Gal-9 mRNA ( $42.47 \pm 13.30$  RU  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin) whereas the children with genotype C/C 13910 and without lactose malabsorption ( $n = 18$ ) had the largest level ( $1086.73 \pm 52.60$  RU  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin), which exceeded the expression

level of Gal-9 mRNA in children without obesity and lactose malabsorption ( $313.34 \pm 19.70$  RU  $\Delta$ mRNA Gal-9 / mRNA actin),  $p < 0.01$ . After the use of exogenous lactase preparations in children with genotype C/C 13910 and lactose malabsorption for a month, the level of expression of Gal-9 mRNA approximated to the level of  $246.21 \pm 15.70$  RU  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin, whereas when used only the low-lactose diet the level increased insignificantly to  $58.72 \pm 21.10$  VD  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin,  $p < 0.01$ . It is also interesting that in children with genotype C/C 13910 without lactose malabsorption against the background of a low-lactose diet, the level of expression of Gal-9 mRNA decreased to  $388.38 \pm 20.40$  RU  $\Delta$ mRNA Gal-9/mRNA actin, approaching the level of healthy children without obesity. **Conclusions.** In children with genotype C/C 13910 the level of expression of Gal-9 mRNA depends on the lactose malabsorption, which requires replacement therapy that combines a low-lactose diet and the use of exogenous lactase preparations. In the absence of lactose malabsorption, using only the low-lactose diet in children with genotype C/C 13910 approximates the level of expression of Gal-9 mRNA to the level of healthy children without obesity.

**Keywords:** galectin-9; obesity, children; lactase deficiency; lactose malabsorption