

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА НА ФОРМИРОВАНИЕ СИНДРОМА ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Г.Е. Ройтберг, Ж.В. Дорosh, Е.В. Аксенов, Т.И. Ушакова

ГБОУ ВПО «Российский научно-исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Контакты: Татьяна Игоревна Ушакова tatyana_ushakova@medicina.ru

Цель исследования — анализ распределения компонентов синдрома инсулинорезистентности (ИР) и изучение частоты встречаемости их комбинаций в зависимости от генотипов и аллельных вариантов гена ангиотензинпревращающего фермента (АПФ).

Материалы и методы. Исследована группа клинически здоровых пациентов (50 женщин и 42 мужчины) с различными генотипами гена АПФ. Проведен анализ распределения компонентов синдрома ИР и частоты встречаемости их комбинаций в зависимости от генотипов и аллельных вариантов гена АПФ.

Результаты. В группе носителей D-аллеля по сравнению с носителями A-аллеля наблюдалась выраженная тенденция к уменьшению встречаемости изолированной ИР за счет увеличения доли пациентов с полным синдромом ИР. Данное наблюдение становится статистически значимым при оценке гомозиготных вариантов гена АПФ. При этом в группе пациентов с генотипом DD по сравнению с генотипом II значимо чаще встречались дислипидемия и артериальная гипертензия на фоне ИР.

Заключение. Выявлено выраженное преобладание проявлений синдрома ИР с полным набором компонентов в генотипической группе DD, что подтверждает значимую сильную ассоциацию между полиморфизмом гена АПФ и развитием синдрома ИР.

Ключевые слова: полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента, инсулинорезистентность, факторы риска

IMPACT OF ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME GENE POLYMORPHISM ON THE DEVELOPMENT OF INSULIN RESISTANCE SYNDROME

G.E. Roitberg, Zh.V. Dorosh, E.V. Aksenov, T.I. Ushakova

N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow

Objective: to analyze the distribution of components of insulin resistance (IR) syndrome and to study the frequency of their combinations in relation to the genotypes and allelic variants of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene.

Subjects and methods. A group of clinically healthy patients (50 women and 42 men) with different genotypes of the ACE gene was examined. The distribution of IR syndrome components and the frequency of their combinations were analyzed in relation to the genotypes and allelic variants of the ACE gene.

Results. A group of D allele carriers compared to A allele ones showed a pronounced tendency for the frequency of IR to reduce due to the higher proportion of patients with complete IR syndrome. This observation becomes statistically significant in the assessment of homozygous variants of the ACE gene. At the same time dyslipidemia and hypertension in the presence of IR significantly more frequently occurred in patients with the DD genotype than in those with genotype II.

Conclusion. There was a marked predominance of the manifestations of IR syndrome with a complete set of components in the DD genotypic group, which confirms the significant strong association between ACE gene polymorphism and IR syndrome.

Key words: angiotensin-converting enzyme gene polymorphism, insulin resistance, risk factors

Введение

Согласно определению Международной федерации диабета, синдром инсулинорезистентности (ИР) представляет собой сочетание факторов риска (ФР) развития атеросклероза [1]. Наиболее значимыми из них являются нарушения углеводного обмена, абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия (АГ) и дислипидемия (ДЛ). Между этими компонентами существует тесная взаимосвязь, обусловленная прежде

всего ИР и гиперинсулинемией [2–4]. По данным экспериментальных и клинических исследований, активация ренин-ангиотензиновой системы (РАС) является одним из важных механизмов, лежащих в основе прогрессирования составляющих синдрома ИР [5]. Главным эффектором РАС служит ангиотензин II, образование которого в большинстве случаев происходит при участии ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). Влияние повышения активности РАС на ме-

табolicеские процессы недостаточно понятно. С одной стороны, были описаны эффекты PAC на каскад инсулиновых сигналов и чувствительность периферических тканей к инсулину путем стимуляции множественных серинфосфорилирующих реакций, вызывающих оксидативный стресс. С другой стороны, было выдвинуто предположение о существовании специфического эффекта PAC на функцию β -клеток поджелудочной железы [5–8].

Исследования последних лет показали, что содержание АПФ в организме человека обусловлено генетически. Ген АПФ расположен в хромосоме 17, в локусе 17q23. Его полиморфизм заключается в присутствии (инсерция – I) или отсутствии (делеция – D) 287 пар оснований Alu-повтора в интроне 16 гена АПФ. Выделяют соответственно 3 генотипа: гомозиготы по инсерции (II), гомозиготы по делеции (DD) и гетерозиготы (ID) [9].

Цель данного исследования – анализ распределения компонентов синдрома ИР и изучение частоты встречаемости их комбинаций в зависимости от генотипов и аллельных вариантов гена АПФ.

Материалы и методы

Обследованы 92 клинически здоровых пациента (50 женщин и 42 мужчины) в возрасте 35–55 лет, обратившихся в поликлинику ОАО «Медицина» для проведения диспансеризации.

Исследование одобрено этическим комитетом в 2009 г. В соответствии с официальными российскими требованиями обязательным условием участия в исследовании являлось получение письменного информированного согласия от пациентов до включения в программу.

По критериям EGIR (2002) синдром ИР определяется как наличие гиперинсулинемии (иммунореактивный инсулин $> 11,0$ мкМЕ/мл) и 2 или более из следующих компонентов: нарушение регуляции глюкозы (уровень глюкозы $\geq 6,1$ ммоль/л и/или нарушение толерантности к глюкозе, исключая сахарный диабет), АГ (уровень артериального давления $\geq 140/90$ мм рт. ст. и/или постоянный прием гипотензивных препаратов), ДЛ (холестерин липопротеидов высокой плотности $\leq 1,0$ ммоль/л и/или триглицериды $\geq 1,7$ ммоль/л), абдоминальное ожирение (окружность талии (ОТ) ≥ 94 см у мужчин и ≥ 80 см у женщин) [10].

На материале ДНК, выделенной из лейкоцитов периферической крови, проводили анализ структуры гена АПФ методом полимеразной цепной реакции. Исследование проводили на базе генетической лаборатории ОАО «Медицина» в 3 этапа:

- выделение ДНК из клинического образца;
- амплификация специфических фрагментов ДНК;
- детекция продуктов амплификации.

Для ДНК-диагностики полиморфизмов использовали метод аллель-специфичного лигирования с последующей амплификацией. ДНК выделяли по стандартной неэнзиматической методике с использованием

набора реагентов Diatom™ DNA Prep 100 (ООО «Центр молекулярной генетики», Россия) из лимфоцитов периферической крови, взятой из локтевой вены. Выделенную ДНК хранили при температуре -20 °С. Изучение полиморфных вариантов проводили с помощью амплификации соответствующих участков генома методом полимеразной цепной реакции, используя следующий набор праймеров:

5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3';
5'-GAT GTG GCC ATC TTC GTC AGA-3'.

Продукты амплификации анализировали с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле, окрашенном бромистым этидием: D-аллелю соответствовал фрагмент размером 190 н.п., I-аллелю – 480 н.п.

Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. При анализе распределения генотипических и аллельных частот в суммарной выборке изученных пациентов частота встречаемости D-аллеля составила 47,8 %, а I-аллеля – 52,2%. Гомозиготами по D-аллелю (генотип DD) являлись 19 (20,7 %) пациентов, гетерозиготами (генотип DI) – 50 (54,3 %), гомозиготами по I-аллелю (генотип II) – 23 (25,0 %) пациентов.

Оценку частоты встречаемости признаков в изучаемой совокупности проводили методом χ^2 . Значимость различий частоты встречаемости генотипов и аллелей гена в группах «случаев» и «контролей» представлены в виде отношения шансов (ОШ) и его 95 % доверительного интервала.

Результаты и обсуждение

Средний возраст пациентов изучаемой группы составил $41,7 \pm 1,4$ года для мужчин и $41,7 \pm 1,3$ года для женщин. ИР была выявлена у 56 (60,9 %) пациентов, остальные 36 не имели признаков синдрома ИР.

Частота встречаемости D-аллеля в подгруппе пациентов с ИР составила 47,3 % ($n = 53$), а I-аллеля – 52,7 % ($n = 59$). Среди инсулинорезистентных пациентов гомозиготами по D-аллелю являлись 16 (28,6 %), гетерозиготами (генотип DI) – 21 (37,5 %), гомозиготами по I-аллелю – 19 (33,9 %).

В ряде работ показано, что сочетание ведущих кардиальных ФР в рамках синдрома ИР не может быть случайным и является следствием патогенетической взаимосвязи. При этом наличие синдрома ИР имеет большую прогностическую ценность, чем просто арифметическая сумма эффектов каждого из ФР [11–13]. В клинических исследованиях установлено, что по сравнению с учетом традиционных ФР атеросклероза по отдельности риск развития ишемической болезни сердца и инсульта у пациентов с синдромом ИР увеличивается в 3 раза, а риск смерти от сердечно-сосудистых событий – в 3,5 раза [14, 15]. В проведенном нами исследовании было выявлено, что в группе носителей D-аллеля по сравнению с носителями I-аллеля наблюдалась выраженная тенденция к уменьшению встречаемости изолированной ИР (рис. 1) на

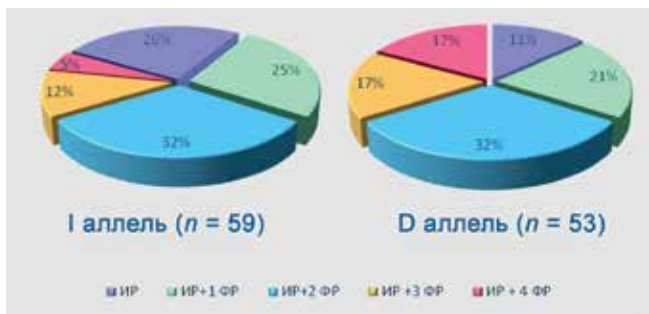


Рис. 1. Распределение числа компонентов синдрома ИР в зависимости от аллельных вариантов гена АПФ

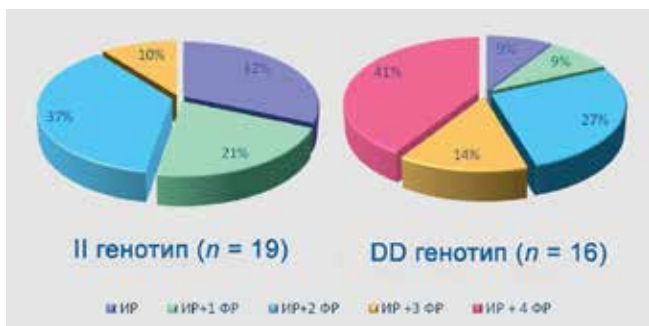


Рис. 2. Распределение числа компонентов синдрома ИР в зависимости от генотипа гена АПФ

13 % (13 и 26 % соответственно, $p = 0,142$) за счет увеличения на 12 % доли пациентов с полным синдромом ИР (5 и 17 % соответственно, $p = 0,081$). Анализ распределения количества совместно встречающихся компонентов синдрома ИР у гомозиготных пациентов по D- и I-аллелям показал значимые различия между изучаемыми группами (рис. 2). Так, изолированная ИР при DD-генотипе встречалась в 9 % случаев по сравнению с 32 % при II-генотипе ($p = 0,006$). Встречаемость 4 компонентов совместно с ИР наблюдалась только у гомозигот по D-аллелю ($p < 0,001$).

Конкретные сочетания компонентов синдрома ИР на фоне гиперинсулинемии представляют фенотипы пациентов, которые имеют различные прогностические характеристики (табл. 1).

При наличии D-аллеля ДЛ и АГ встречались на фоне ИР значительно чаще, чем при I-аллеле: 64,2 % против 39,0 % ($p = 0,013$) и 60,4 % против 37,3 % ($p = 0,024$) соответственно. Частота встречаемости фенотипа С также была выше при носительстве D-аллеля и составила 28,3 % против 11,8 % ($p = 0,050$). По остальным изучаемым фенотипам значимых различий получено не было (рис. 3).

Таблица 1. Характеристика фенотипов пациентов

ИР + 1 ФР	ИР + 2 ФР	ИР + 3 ФР
A = ↑ОТ	B = АГ + ↑ОТ	C = АГ + ↑ОТ + ДЛ
E = АГ	D = ДЛ + ↑ОТ	–
G = ДЛ	F = ДЛ + АГ	–

Полученные результаты носят еще более выраженный характер при исследовании частоты встречаемости различных фенотипов в зависимости от носительства гомозиготных генотипов по гену АПФ. В группе пациентов с генотипом DD по сравнению с генотипом II также чаще встречались ДЛ и АГ на фоне ИР – 68,8 % против 31,6 % ($p = 0,05$) и 81,3 % против 42,1 % ($p = 0,04$) соответственно (рис. 4).



Рис. 3. Варианты сочетания компонентов синдрома ИР в зависимости от аллельных вариантов гена АПФ

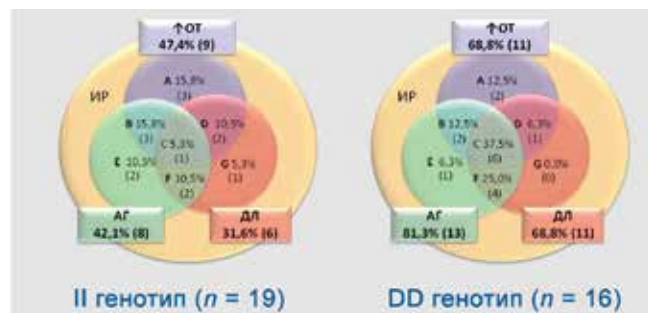


Рис. 4. Варианты сочетания компонентов синдрома ИР в зависимости от генотипов гена АПФ

Частота встречаемости фенотипа С была в 7 раз выше при носительстве генотипа DD и также значительно отличалась от таковой у гомозигот по I-аллелю – 37,5 % против 5,3 % ($p = 0,050$). По остальным изучаемым фенотипам различий получено не было.

Был проведен анализ риска в соответствии с показателем ОШ для различных фенотипов. Представлены данные об отношении к развитию синдрома ИР полиморфизма гена АПФ. Изучены связи с отдельными компонентами синдрома ИР (ДЛ, АГ или ОТ) и сочетаниями 2 либо 3 этих факторов при наличии ИР. Взаимосвязь генотипов или аллельных вариантов гена АПФ с указанными фенотипами оценивали с помощью расчета ОШ и их 95 % доверительных интервалов. Группу носителей D-аллеля с конкретным фенотипом (например, B) сравнивали с пациентами с таким же фенотипом при наличии аллеля I.

Риск формирования полного синдрома ИР выше в 2,93 раза ($p = 0,033$) в группе носителей D-аллеля по сравнению с аллельным вариантом I (табл. 2). Также в этой группе наблюдалась близкая к статистически

Таблица 2. ОШ развития синдрома ИР при наличии D-аллеля гена АПФ

Ран- говое место	Фенотип	ОШ	95 % до- верительный интервал	p
1	B (↑ОТ + АГ)	0,35	0,07–1,8	0,207
2	G (ДЛ)	0,77	0,23–2,6	0,679
3	A (↑ОТ)	0,81	0,26–2,5	0,721
4	D (ДЛ + ↑ОТ)	0,88	0,22–3,5	0,857
5	E (АГ)	1,13	0,31–4,1	0,859
6	C (↑ОТ + АГ + ДЛ)	2,93	1,09–7,9	0,033
7	F (АГ + ДЛ)	3,20	0,94–10,9	0,063

Таблица 3. ОШ развития синдрома ИР при наличии генотипа DD гена АПФ

Ран- говое место	Фенотип	ОШ	95 % до- верительный интервал	p
1	G (ДЛ)	0,37	0,01–9,8	0,550
2	D (ДЛ + ↑ОТ)	0,57	0,05–6,9	0,656
3	E (АГ)	0,57	0,05–6,9	0,656
4	A (↑ОТ)	0,76	0,11–5,2	0,782
5	B (↑ОТ + АГ)	0,76	0,11–5,2	0,782
6	F (АГ + ДЛ)	2,83	0,44–18,0	0,270
7	C (↑ОТ + АГ + ДЛ)	10,8	1,13–102,8	0,039

значимой ассоциация риска развития сочетания АГ и ДЛ на фоне ИР с полиморфизмом гена АПФ при ОШ = 3,2 ($p = 0,063$).

Была выявлена еще более выраженная приверженность к проявлениям синдрома ИР с полным набором компонентов в генотипической группе DD. ОШ составило 10,8 ($p = 0,039$), что подтверждает значимую сильную ассоциацию между D-аллелем и развитием полного синдрома ИР (табл. 3).

Заключение

Таким образом, основные компоненты синдрома ИР представляют донозологические состояния и являются

отдельными факторами кардиометаболического риска. Отличительной чертой их сочетания является тот факт, что ИР, объединяя компоненты синдрома, усиливает выраженность каждого из них. В нашем исследовании показано, что риск развития полного синдрома ИР значимо выше в группе носителей D-аллеля и достигает 10-кратного увеличения в гомозиготной по D-аллелю группе. Оценка индивидуального кардиометаболического риска, основанная на встречаемости отдельных компонентов синдрома ИР и их сочетаний, с учетом генетических особенностей пациента позволит оптимизировать проведение скрининговых программ и лечебно-профилактических мероприятий.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. The IDF worldwide definition of the metabolic syndrome. <http://www.idf.org/metabolic-syndrome>.
2. Anderson P.J., Critchley J.A., Chan J.C. et al. Factor analysis of the metabolic syndrome: obesity vs insulin resistance as the central abnormality. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25(12):1782–8.
3. Carr D.B., Utzschneider K.M., Hull R.L. et al. Intra-abdominal fat is a major determinant of the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III criteria for the metabolic syndrome. *Diabetes* 2004;53(8):2087–94.
4. Метаболический синдром. Под ред. член-корр. РАМН Г.Е. Ройтберга. М.: МЕДпресс-информ, 2007.
5. de Kloet A.D., Krause E.G., Woods S.C. The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiol Behav* 2010;100(5):525–34.
6. Lucius R., Gallinat S., Busche S. et al. Beyond blood pressure: new roles for angiotensin II. *Cell Mol Life Sci* 1999;56(11–12):1008–19.
7. Johnston C.I., Risvanis J. Preclinical pharmacology of angiotensin II receptor antagonists: update and outstanding issues. *Am J Hypertens* 1997;10(12 Pt 2):306S–10S.
8. Chung O., Stoll M., Unger T. Physiologic and pharmacologic implications of AT1 versus AT2 receptors. *Blood Press Suppl* 1996;5(2):47–52.
9. Mattei M.G., Hubert C., Alhenc-Gelas F. et al. Angiotensin-I converting enzyme gene is on chromosome 17. *Cytogenet Cell Genet* 1989;51:1041–5.
10. Balkau B., Charles M.A., Drivsholm T. et al. Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab* 2002;28(5):364–76.
11. Метаболический синдром. Под ред. В. Фонсеки. М.: Практика, 2011.
12. Nesto R.W. The relation of insulin resistance syndromes to risk of cardiovascular disease. *Rev Cardiovasc Med* 2003;4(6):S11–8.
13. Grundy S.M. Metabolic syndrome: connecting and reconciling cardiovascular and diabetes worlds. *J Am Coll Cardiol* 2006;47(6):1093–100.
14. De Ferranti S.D., Gauvreau K., Ludwig D.S. et al. Prevalence of the metabolic syndrome in American adolescents: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation* 2004;110(16):2494–7.
15. Israelian-Konarakis Z., Reaven P.D. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and atherosclerosis: from basic mechanisms to clinical implications. *Cardiology* 2005;103(1):1–9.