

Взаимосвязь полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента с развитием нарушений углеводного обмена

Г.Е.Ройтберг^{1,2}, Ж.В.Дорош¹, Е.В.Аксенов², О.О.Шархун¹, Т.И.Ушакова²

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра терапии и семейной медицины факультета усовершенствования врачей, Москва (зав. кафедрой — акад. РАМН, проф. Г.Е.Ройтберг);

²ОАО «Медицина», Москва

(президент — акад. РАМН, проф. Г.Е.Ройтберг)

Исследована группа клинически здоровых пациентов (50 женщин и 42 мужчины) с различными генотипами гена ангиотензинпревращающего фермента (АПФ). Проведена оценка влияния I/D полиморфизма гена АПФ на формирование инсулинорезистентности и оценка 5-летней вероятности развития нарушений углеводного обмена у пациентов с различными генотипами гена АПФ. Выявлено, что большинство носителей генотипа DD имеют латентную гиперинсулинемию. Лица с генотипом II обладают большей устойчивостью к развитию нарушений углеводного обмена, нежели носители генотипа DD. Показано, что риск развития всех нарушений углеводного обмена при генотипе DD в 3,9 раза выше, чем при генотипе II, с 95% доверительным интервалом от 1,06 до 14,3 ($p = 0,041$).

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

The Association of Angiotensin Converting Enzyme Gene Polymorphism with the Development of Carbohydrate Metabolism Disorders

G.E.Roytberg^{1,2}, J.V.Dorosh¹, E.V.Aksenov², O.O.Sharkhun¹, T.I.Ushakova²

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Therapy and Family Medicine of Doctors' Improvement Faculty, Moscow (Head of the Department — Acad. of RAMS, Prof. G.E.Roytberg);

²JSC «Medicine», Moscow

(President — Acad. of RAMS, Prof. G.E.Roytberg)

The healthy patients (50 women and 42 men) with different genotypes of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene were studied. The influence of ACE gene I/D polymorphism on the insulin resistance progression was evaluated. The 5-year probability estimation of carbohydrate metabolism disorders in patients with different ACE gene genotypes was done. It was revealed that the most part of DD genotype patients had a latent hyperinsulinemia. The subjects with II genotype were more resistant to carbohydrate metabolism disorders, rather than DD genotype subjects. It was shown that the risk of all carbohydrate metabolism disorders was 3.9 times higher in DD vs. II genotype groups with a 95% confidence interval from 1.06 to 14.3 ($p = 0.041$).

Keywords: angiotensin converting enzyme gene polymorphism, insulin resistance, risk factors

Ренин-ангиотензиновая система (РАС) принимает участие в регуляции ряда физиологических и патофизиологических состояний. Главным эффектором РАС является ангиотензин II (АТII), образование которого в большинстве случаев происходит при участии ангиотензинпревращающего фермента (АПФ).

Исследования последних лет показали, что количество АПФ генетически обусловлено. Ген АПФ расположен в хромосоме 17, в локусе 17q23. Его полиморфизм заключается в присутствии (I) или отсутствии (D) 287 пар оснований Alu-

повтора в интроне 16 гена АПФ. В соответствии с этим выделяют три генотипа: гомозиготы по инсерции (II), гомозиготы по делеции (DD) и гетерозиготы (ID) [1, 2]. Многие авторы отмечают корреляцию между аллелями D и уровнем АПФ в крови, лимфе и тканях. По данным B.Rigat и соавт. (1990), уровень АПФ в сыворотке у гомозиготных по аллелю D пациентов был почти в два раза выше, чем у гомозиготных по аллелю I [3]. В более поздних работах аналогичные результаты получены D.M.Bell (1997) [4]. В настоящее время существует немало исследований по инсерционно-делеционному полиморфизму гена АПФ. В большинстве из них показано, что полиморфизм гена взаимосвязан с высоким уровнем АПФ плазмы, а следовательно, и с изменением уровня АТII [5–7].

Полиморфизм D/I оказался ассоциирован с развитием целого ряда сердечно-сосудистых заболеваний [8, 9]. По данным последних исследований, полиморфизм гена АПФ также может быть связан с развитием инсулинорезистентности (ИР) [10].

Для корреспонденции:

Аксенов Евгений Васильевич, врач отделения семейной медицины ОАО «Медицина»

Адрес: 125047, Москва, 2-й Тверской-Ямской пер., 10

Телефон: (499) 251-5684

E-mail: e_axenov@mail.ru

Статья поступила 17.10.2012, принята к печати 19.12.2012

В доклинических исследованиях выявлена связь между уровнем АТII и путями передачи инсулинового сигнала. Внутривенное введение ангиотензина II во время выполнения эугликемического гиперинсулинемического клэмп-теста снижает уровень ИР за счет улучшения кровоснабжения инсулиночувствительных тканей у пациентов. Для осуществления биологического действия инсулин связывается с обладающим тирозинкиназной активностью мембранным рецептором. Через аутофосфорилирование тирозинового остатка это приводит к запуску процесса передачи сигнала инсулина. С другой стороны, инсулин активизирует РАС в миоцитах, гладкомышечных и эндотелиальных клетках сосудов. Последующая инкубация этих клеток с инсулином удваивает полученный эффект. Эти данные указывают на существование потенциального перекрестно-переговорного (cross-talk) механизма между РАС и гипергликемией [11, 12].

Проведенные в последнее время работы указывают на наличие дополнительного механизма влияния полиморфизма гена АПФ на углеводное равновесие. Полагают, что при наличии аллеля D инфузия АТII уменьшает первую фазу секреции инсулина, что во многом может предсказать развитие сахарного диабета (СД) 2 типа. Кроме того, АТII оказывает влияние на трансмембранный транспорт глюкозы в клетки инсулинзависимых тканей — тормозит активацию белков транспортеров глюкозы [13].

Хотя в литературе встречаются работы по изучению ассоциации различных аллелей и генотипов гена АПФ, в частности генотипа DD, с развитием ИР, все же эта проблема недостаточно изучена.

Цель данной работы — исследование влияния I/D полиморфизма гена АПФ на формирование инсулинорезистентности и оценка 5-летней вероятности развития нарушений углеводного обмена у пациентов с различными генотипами гена АПФ.

Пациенты и методы

На этапе включения в исследование в 2001–2002 гг. были обследованы 92 клинически здоровых пациента (50 женщин и 42 мужчины) в возрасте 35–55 лет, обратившихся в поликлинику ОАО «Медицина» для проведения диспансеризации.

Методы обследования включали в себя проведение перорального глюкозо-толерантного теста с определением уровня глюкозы и иммунореактивного инсулина (ИРИ) натощак и через 2 ч после нагрузки 75 г глюкозы. Состояние углеводного обмена оценивали по критериям ВОЗ (1999): норма, нарушение гликемии натощак, нарушение толерантности к глюкозе и сахарный диабет 2 типа. Для подтверждения диагноза СД 2 типа дополнительно определяли уровень гликозилированного гемоглобина.

Критерием гиперинсулинемии считали повышение ИРИ натощак выше 15 мкЕД/мл или повышение ИРИ после нагрузки выше 25 мкЕД/мл. Для оценки общей периферической ИР использовали индекс НОМА–IR.

Дополнительно определяли косвенные показатели ИР, характеризующиеся уровнями триглицеридов (ТГ) и соотношением ТГ/ХС ЛПВП. Уровень ТГ определяли ферментативным калометрическим методом, реакцией GPO-

PAP; значения ХС ЛПВП — глюкозооксидантным методом, предварительно осаждая сыворотку крови хлористым магнием.

Из материала ДНК, выделенного из лейкоцитов периферической крови, проводили анализ структуры гена АПФ методом полимеразной цепной реакции.

При анализе распределения генотипических и аллельных частот в суммарной выборке изученных пациентов частота встречаемости аллеля D составила 48,6%, а аллеля I — 51,4%. Гомозиготами по аллелю D (генотип DD) были 19 (20,7%) пациентов, гетерозиготами (генотип DI) — 50 (54,3%) пациентов, гомозиготами по аллелю I (генотип II) — 23 (25,0%) пациента. Распределение генотипов соответствовало равновесию Харди–Вайнберга (табл. 1).

Ежегодно в течение последующих пяти лет после первичного обследования проводили контрольные клинико-лабораторные исследования у пациентов изучаемой группы.

Для статистической обработки данных применяли стандартный пакет статистических программ SPSS 11.0.1, использовали стандартные статистические и математические методы: одномерный статистический анализ, оценка частоты встречаемости признаков в изучаемой совокупности (метод χ^2), сравнение количественных показателей (оценка достоверности по *t*-критерию Стьюдента). Количественные показатели были описаны в терминах среднего значения, стандартного отклонения (дисперсии) и стандартной ошибки среднего. При сравнении средних значений в изучаемых различных группах использовали метод дисперсного анализа. Результаты расценивали как значимые при уровне вероятности $p < 0,05$. Результаты представлены в виде относительного риска с 95% доверительным интервалом.

Достоверность различия частоты встречаемости генотипов и аллелей гена в группах случаев и контролей представлены в виде отношения шансов (ОШ), значение которого представляет собой отношение шансов события в одной группе к шансам события в другой группе или отношение шансов того, что событие произойдет, к шансам того, что событие не произойдет.

Результаты исследования и их обсуждение

Наличие связи между полиморфизмом гена АПФ и метаболизмом глюкозы до настоящего времени вызывает сомнение у многих исследователей. В большинстве работ не показана связь между D/I полиморфизмом и уровнями глюкозы, ИРИ и индексом ИР [14, 15]. Это согласуется с данными, полученными нами в начале работы. При включении пациентов в исследование статистически достоверных изменений показателей углеводного обмена в группах с различными генотипами и аллельными вариантами по

Таблица 1. Распределение генотипических и аллельных частот АПФ в суммарной выборке изученных пациентов

Частота	Генотип гена АПФ			Аллель гена АПФ	
	DD	DI	II	АПФ *D	АПФ *I
Наблюдаемая	19	50	23	0,478	0,522
Ожидаемая	20,8	46,4	25,8		

Гетерозиготность: $H_{\text{наблюд.}} = 0,543$; $H_{\text{ожидаем.}} = 0,464$.
 $\chi^2 H-W = 0,57$; $d.f. = 1$; $p > 0,05$

Таблица 2. Средние показатели углеводного обмена в зависимости от полиморфизма гена АПФ через 5 лет динамического наблюдения пациентов

Показатель	Генотип		Аллельный вариант		
	DD n = 19	DI n = 50	II n = 23	D n = 88	I n = 96
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,75 ± 0,13	5,40 ± 0,09	5,41 ± 0,11	5,50 ± 0,08	5,47 ± 0,13
Глюкоза через 2 ч, ммоль/л	7,23 ± 0,28	6,34 ± 0,32	7,00 ± 0,35	6,93 ± 1,51	6,77 ± 1,14
ИРИ натощак, мкМЕ/мл	15,34 ± 1,03	10,34 ± 1,14	12,69 ± 0,82	12,49 ± 0,97	11,70 ± 0,82
ИРИ через 2 ч, мкМЕ/мл	40,78 ± 3,82	34,26 ± 3,15	30,08 ± 3,51	40,51 ± 1,95	34,22 ± 2,11
НОМА-IR	4,01 ± 0,49	2,63 ± 0,36	3,12 ± 0,24	4,34 ± 0,45	3,05 ± 0,29

гену АПФ не выявлено. Все изучаемые показатели были в пределах нормативных значений.

В группе пациентов носителей различных аллельных вариантов гена АПФ через 5 лет наблюдения достоверных различий по тощаковым и постпрандиальным уровням глюкозы и инсулина не выявлено (табл. 2). Однако у гомозиготных пациентов по аллелю D показатели ИРИ натощак в среднем превышали верхнюю границу пороговых значений, что можно рассматривать как истинную гиперинсулинемию ($15,3 \pm 1,03$ мкМЕ/мл).

Отмечены статистически значимо более высокие значения индекса НОМА-IR в группе пациентов с аллелем D по сравнению с пациентами носителями аллеля I ($p = 0,025$).

При исследовании крови натощак выявлены достоверные различия между группами пациентов с аллелями D и I по приросту показателей ИРИ в 1,7 раза и НОМА-IR в 2,3 раза.

В группе пациентов с генотипом DD уровень глюкозы крови натощак на 2-м этапе исследования стал достоверно выше, чем в группах пациентов с генотипами DI и II ($p = 0,044$). Через 2 ч после нагрузки 75 г глюкозы достоверных различий между группами выявлено не было, но у носителей генотипа DD отмечали пограничные уровни глюкозы ($7,23 \pm 0,28$ ммоль/л). Показатели ИРИ также были достоверно выше при генотипе DD натощак ($p = 0,049$) и после нагрузки 75 г глюкозы ($p = 0,046$) (см. табл. 2). Выявлено достоверное различие НОМА-IR между носителями генотипа II и DD ($p = 0,011$).

Во всех изучаемых группах отмечали прирост исследуемых показателей через 5 лет наблюдения относительно исходного уровня (рис. 1). Выявлено достоверное увеличение показателей ИРИ натощак и после нагрузки 75 г глюкозы, а также индекса НОМА-IR. Наиболее выраженные изменения наблюдали в группе пациентов с генотипом DD — достоверно возросли уровни ИРИ натощак (на 8,16 мкМЕ/мл; 113,7%) и индекса НОМА-IR (на 112,2%). Полученные результаты подтверждают сделанные в более ранних исследованиях выводы о предположительном влиянии аллеля D, особенно в гомозиготном состоянии, на функцию бета-клеток [16].

Индекс НОМА-IR исходно был выше нормы у 30,4% носителей генотипа II, у 14,0% носителей генотипа DI и у 10,5% пациентов с генотипом DD. Во всех группах через 5 лет наблюдения отмечено увеличение доли пациентов с ИР (78,3, 32,0 и 73,7% соответственно), при этом наибольший прирост (на 63,2%) был в группе носителей генотипа DD.

По приросту показателей НОМА-IR и ИРИ за период 5-летнего наблюдения достоверных различий между группами пациентов с различными аллелями гена АПФ отмечено не было (см. рис. 1).

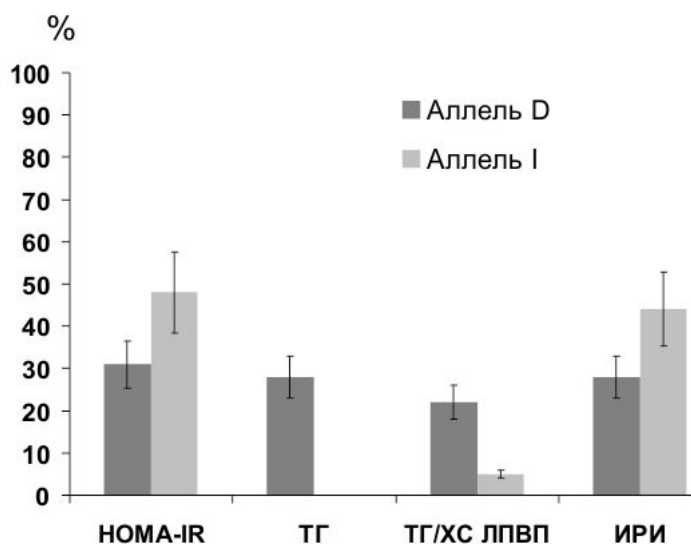


Рис. 1. Доля пациентов с наличием ИР, рассчитанной по различным критериям, в зависимости от аллельных вариантов гена АПФ через 5 лет наблюдения.

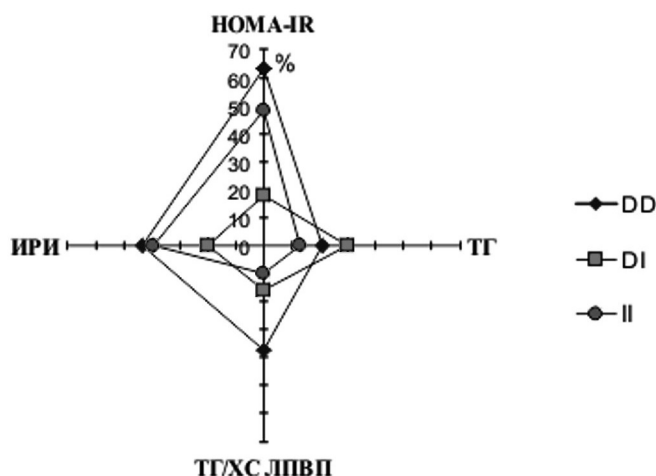


Рис. 2. Доля пациентов с наличием ИР, рассчитанной по различным критериям, в зависимости от полиморфизма гена АПФ через 5 лет наблюдения.

При оценке чувствительности к инсулину, диагностированной по косвенному показателю ТГ/ХС ЛПВП, через 5 лет наблюдали достоверно большее количество инсулинорезистентных пациентов в группе носителей генотипа DD — 52,6% (рис. 2). Наименее значимые результаты получены при оценке ИР по критерию гипертриглицеридемии, диагностированной по пороговому уровню, — 1,46 ммоль/л.

Результаты динамического наблюдения позволили диагностировать через 5 лет во всей изучаемой группе нару-

Таблица 3. Результаты расчета ОШ развития нарушений углеводного обмена у пациентов – носителей генотипа DD

Показатель	Значение
Доля пациентов с нарушениями углеводного обмена:	
DD генотип	11/19 (57,9%)
II генотип	6/23 (26,1%)
Отношение шансов	3,8958
95% доверительный интервал	1,0594–14,3262
Z-статистика	2,047
Уровень достоверности	$p = 0,0407$

шение гликемии натощак — у 16 (17,4%) пациентов, нарушение толерантности к глюкозе — у 10 (10,9%) пациентов и СД 2 типа — у 3 (3,3%) человек.

Следует отметить, что среди пациентов гомозиготных по аллелю D доля лиц с нарушением углеводного обмена составила 58%. Частота гипергликемии натощак в этой группе была в 2,4 раза выше, чем среди гомозиготных по I пациентов (31,6 против 13,1%), а частота нарушенной толерантности к глюкозе — в 2,5 раза выше (21,1 против 8,7%). СД 2 типа диагностирован по одному случаю в каждой из групп.

Расчет ОШ показал (табл. 3), что риск развития всех нарушений углеводного обмена при генотипе DD в 3,9 раза выше, чем при генотипе II, с 95% доверительным интервалом от 1,06 до 14,33 ($p = 0,041$).

Заключение

Анализ различных показателей углеводного обмена, в том числе индексов инсулинорезистентности, показал, что большинство носителей генотипа DD имеют латентную гиперинсулинемию, выявленную натощак и на фоне проведения перорального глюкозо-толерантного теста. Лица с генотипом II обладают большей устойчивостью к развитию нарушений углеводного обмена, нежели носители генотипа DD, что, по всей видимости, связано с протективным действием аллеля I. Показано, что при гетерозиготном состоянии (генотип DI) пациенты имеют менее выраженные, чем носители генотипа DD, нарушения углеводного обмена.

Литература

- Danser A.H., Schalekamp M.A., Bax W.A. et al. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism // *Circulation*. 1995. V.92. P.1387–1388.
- Rigat B., Hubert C., Corvol P., Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin-converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1) // *Nucleic Acids Res.* 1992. V.20. P.1433.
- Rigat B., Hubert C., Alhenc-Gelas F. et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels // *J. Clin. Invest.* 1990. V.86. P.1343–1346.
- Bell D.M., Rutledge D.R., Pepine C.J. Association of the insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and angiotensin-converting enzyme inhibitor cough in patients with congestive heart failure // *Abstracts of the 19th Congress of the European Society of Cardiology, Stockholm, Sweden, August 24–28, 1997. Stockholm, 1997. P.976.*

- Gesang L., Liu G., Cen W. et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and its association with essential hypertension in a Tibetan population // *Hypertens. Res.* 2002. V.25. №3. P.481–485.
- Morshed M., Khan H., Akhteruzzaman S. Association between angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and hypertension in selected individuals of the Bangladeshi population // *J. Biochem. Mol. Biol.* 2002. V.35. №3. P.251–254.
- Tsai C.T., Fallin D., Chiang F.T. Angiotensinogen gene haplotype and hypertension: interaction with ACE gene I allele // *Hypertension*. 2003. V.41. №1. P.9–15.
- Abdul-Ghani M.A., Williams K., DeFronzo R.A., Stern M. What is the best predictor of future type 2 diabetes? // *Diabetes Care*. 2007. V.30. P.1544–1548.
- Ferrannini E., Balkau B., Coppock S.W. et al. Insulin resistance, insulin response, and obesity as indicators of metabolic risk // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007. V.92. P.2885–2892.
- Метаболический синдром / Под ред. чл.-кор. РАН Г.Е.Ройтберга. М.: МЕДпресс-информ, 2007. 224 с.
- Moule K.S., Denton R.M. Multiple signalink pathways involved in the metabolic effects of insulin // *Am. J. Cardiol.* 1997. V.80. P.41A–49A.
- Velloso L.A., Folli F., Sun X.J. et al. Cross-talk between the insulin and angiotensin signaling systems // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996. V.93. P.12490–12495.
- Carlsson P.O., Berne C., Jansson L. Angiotensin II and the endocrine pancreas: effects on islet blood flow and insulin secretion in rats // *Diabetologia*. 1998. V.41. P.127–133.
- Huang X.H., Rantalaiho V., Wirta O. et al. Relationship of the angiotensin-converting enzyme gene polymorphism to glucose intolerance, insulin resistance, and hypertension in NIDDM // *Hum. Genet.* 1998. V.102. P.372–378.
- Nagi D.K., Foy C.A., Mohamed-Ali V. et al. Angiotensin-1-converting enzyme (ACE) gene polymorphism, plasma ACE levels, and their association with the metabolic syndrome and electrocardiographic coronary artery disease in Pima Indians // *Metab. Clin. Exp.* 1998. V.47. P.622–626.
- Tikellis C., Wookey P.J., Candido R. et al. Improved islet morphology after blockade of the renin-angiotensin system in the ZDF rat // *Diabetes*. 2004. V.53. P.989–997.

Информация об авторах:

Ройтберг Григорий Ефимович, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой терапии и семейной медицины ФУВ Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, президент ОАО «Медицина»
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 250-9190
E-mail: contact@medicina.ru

Дорош Жанна Валентиновна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии и семейной медицины ФУВ Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 251-5684
E-mail: jdorosh@yandex.ru

Шархун Ольга Олеговна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии и семейной медицины ФУВ Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 251-5684
E-mail: contact@medicina.ru

Ушакова Татьяна Игоревна, кандидат биологических наук, координатор научных проектов ОАО «Медицина»
Адрес: 125047, Москва, 2-й Тверской-Ямской пер., 10
Телефон: (499) 251-5684
E-mail: t-ushakova@mail.ru