

Асоціації поліморфізму гена IRS-1 з порушеннями ліпідного спектра крові при гіпертонічній хворобі і супутньому цукровому діабеті 2-го типу

А. С. Шалімова

Харківська медична академія післядипломної освіти

В останні роки інсулінорезистентність (ІР) розглядають як незалежний фактор ризику виникнення дисліпідемії, системного запалення та окиснювального стресу. Тому велику увагу науковці приділяють вивченню генів, які асоціюються з розвитком ІР – важливого патогенетичного механізму формування цукрового діабету 2-го типу (ЦД2) та інших захворювань. У різних джерелах можна знайти багато суперечливих фактів про роль поліморфізму субстрату інсулінових рецепторів 1-го типу (IRS-1) у розвитку ІР та її наслідків. Мета дослідження полягала у вивченні поліморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 і його асоціацій з показниками ліпідного спектра крові у пацієнтів з гіпертонічною хворобою (ГХ) і ЦД2. В українській популяції пацієнтів встановлена асоціація поліморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 з розвитком коморбідності – ГХ і ЦД2. Генетичний поліморфізм Gly972Arg впливав на порушення біохімічних показників пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД2. Більш виражені порушення показників ліпідного і вуглеводного спектрів були характерні для пацієнтів з гомозиготним генотипом Arg/Arg. Генотип Arg/Arg поліморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 був пов'язаний з підвищенням рівнів атерогенних ліпопротеїдів і більш вираженою ІР.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, інсулінорезистентність, гіпертонічна хвороба, генетичний поліморфізм IRS-1.

В останні роки велику увагу дослідники приділяють вивченню механізмів розвитку і прогресування коморбідної патології, зокрема гіпертонічної хвороби (ГХ) і цукрового діабету 2-го типу (ЦД2) як одних з найбільш поширених неінфекційних захворювань у світі. ЦД2 діагностують у 50–80% хворих на ГХ, це збільшує ризик розвитку серцево-судинних ускладнень (ССУ) [1, 2, 18].

До провідних факторів, які визначають частоту і вираженість ССУ при ЦД2, належать гіперінсулінемія та інсулінорезистентність (ІР). Так, гіперінсулінемію вважають незалежним фактором ризику виникнення інфаркту міокарда та інших ускладнень ішемічної хвороби серця [2, 3].

На сьогодні ІР розглядають не лише як спільний патогенетичний компонент розвитку ГХ і ЦД2 та провідну ланку у формуванні ускладнень при ЦД2, а також як один з механізмів патогенезу атеросклерозу, синдрому склерокістозних яєчників і деяких інших захворювань [4, 14].

У формуванні ІР беруть участь генетичний (спадковий) і набутий компоненти. Генетична схильність до ІР при відсутності відповідних факторів (надлишкового харчування, низької фізичної активності та ін.) може не реалізуватися і не проявитися клінічно [2, 11].

У формуванні ІР виділяють пререцепторний, рецепторний і пострецепторний рівні порушень. Пререцепторний рівень пов'язаний з аномальними молекулами інсуліну; рецепторний – зі зменшеною кількістю інсулінових рецепторів, аномальними формами рецепторів до інсуліну і субстрату інсулінового рецептора (IRS), порушенням афінності інсулінових рецепторів; пострецепторний – з порушенням трансдукції інсулінового сигнала.

Набуті форми ІР в першу чергу пов'язують з пострецепторним механізмом (насамперед порушується транслокація глюкозного транспортера ГЛЮТ-4) [2, 4].

У нормі інсулін, з'єднуючись з рецептором на поверхні клітин м'язової, жирової або печінкової тканини, стимулює захоплення глюкози, амінокислот, синтез глікогену, ДНК, білка, жирних кислот, транспорт іонів, а також пригнічує ліполіз, глюконеогенез і апоптоз [3, 9, 11]. Після приєднання інсуліну до свого рецептора відбувається автофосфорилляція цього рецептора за участю тирозинкінази і подальше його з'єднання з IRS. Фосфорилування інсулінового рецептора відбувається у дев'яти внутрішньоклітинних сигнальних молекулах чотирьох основних IRS (IRS-1, IRS-2, IRS-3 і IRS-4). При цьому більшість біологічних ефектів інсуліну опосередковується через IRS-1 і IRS-2 [2, 10, 15]. У свою чергу, молекули IRS активують фосфатидилінозитол-3-кіназу, стимулюючи транслокацію ГЛЮТ-4, що забезпечує активацію ефектів інсуліну. Установлено, що у пацієнтів з ЦД2 наявні генетичні дефекти, відповідальні за передачу сигналу після з'єднання інсуліну зі своїм рецептором у вигляді порушення транслокації переносників глюкози, що може бути пов'язано з порушеннями на рівні IRS-1 та/або фосфатидилінозитол-3-кінази [3, 4, 22].

Незважаючи на значні успіхи у дослідженні генома більшість генетичних факторів, що спричинюють розвиток ЦД2, залишаються не визначеними [2]. Як показано у роботах дослідників, численні поліморфізми гена IRS-1, які розташовані у 2q36-37, пов'язують з резистентністю до інсуліну у різних популяціях [2, 6, 7]. Установлено, що окремі нуклеотидні поліморфізми Gly972Arg, Pro170Arg та Met209Thr у гені IRS-1 пов'язані зі зниженням фосфатидилінозитол-3-кіназої активності, що призводить до ІР різного ступеня вираженості [5, 12, 17]. Крім того, було відзначено, що поліморфізми Gly972Arg та Ala513Pro здатні також впливати на гіперінсулінемію і склад жирних кислот у м'язах [7, 16, 21].

У той самий час, існують досить суперечливі дані щодо впливу Gly972Arg-поліморфізму гена IRS-1 в різних популяціях. Зокрема, у дослідженнях Celi F.S. (2000), Aileen J.M. (2005), Morini E. (2009), Burguete-Garcia A.I. (2010), Voight B.F. (2010), Martínez-Gómez L.E. (2011) встановлено, що зазначений поліморфізм зумовлює розвиток ЦД2 у європейській і мексиканській популяціях хворих, тоді як дослідження Orkunoglu Suer F.E. (2005), Radha V. (2009), Bodhini D. (2011), Hilal Arıkoğlu (2014) не підтвердили ролі поліморфізму Gly972Arg у формуванні ЦД2 у турецькій і індійській популяціях пацієнтів [5–8, 13–14, 16, 19, 20, 22].

Таким чином, наявність різних поглядів на внесок поліморфізму Gly972Arg гена IRS-1 на формування ІР при ЦД2 зумовлюють необхідність дослідження зазначеного поліморфізму в українській популяції пацієнтів.

Мета дослідження: вивчення поліморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 і його асоціацій з показниками ліпідного спектра крові у пацієнтів з ГХ і ЦД2.

Алелі та генотипи IRS-1 в обстежених пацієнтів

Показники	Основна група, n=94		Контрольна група, n=20	
	n	%	n	%
Алель Arg	30	31,39	1	5*
Алель Gly	64	68,61	19	95*
Arg/Arg	10	10,64	-	-
Gly/Arg	39	41,49	2	10*
Gly/Gly	45	47,87	18	90*

Примітка: * – статистично значущі відмінності між основною і контрольною групами ($p < 0,001$).

Таблиця 2

Показники ліпідного і вуглеводного спектрів у пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД2 залежно від генотипів IRS-1

Показники	Генотип Arg/Arg	Генотип Gly/Arg	Генотип Gly/Gly
ЗХС, ммоль/л	6,79±0,05	6,43±0,05*	6,08±0,04***
Тригліцериди, ммоль/л	2,57±0,06	2,36±0,04*	2,12±0,04***
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	5,29±0,09	5,15±0,04*	4,93±0,05***
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	0,96±0,02	0,98±0,01	0,99±0,02
Глюкоза крові натще, ммоль/л	7,35±0,04	7,22±0,05	7,03±0,02***
HbA1c, %	7,19±0,03	7,12±0,03	7,01±0,02***
Інсулін, мкОД/мл	25,5±0,36	25,1±0,51	23,2±0,42**
НОМА	8,12±0,17	7,61±0,12*	7,19±0,13***

Примітки. * – статистично значущі відмінності між генотипами Arg/Arg і Gly/Arg; ** – статистично значущі відмінності між генотипами Arg/Arg і Gly/Gly; ° – статистично значущі відмінності між генотипами Gly/Arg і Gly/Gly.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

На базі кафедри терапії та нефрології Харківської медичної академії післядипломної освіти обстежено 94 пацієнти з ГХ II стадії, 2-го ступеня у сполученні з ЦД2 середньої важкості, субкомпенсованим, віком від 45 до 60 років (основна група). Контрольну групу склали 20 пацієнтів, у яких ГХ і ЦД2 були виключені на підставі даних клініко-лабораторного обстеження.

Пацієнтам, включеним у дослідження, стандартними біохімічними методами визначали концентрації глюкози у венозній крові натще, глікозильованого гемоглобіну (HbA1c), інсуліну, загального холестерину (ЗХС), тригліцеридів, холестерину ліпопротеїдів високої (ХС ЛПВЩ) та низької щільності (ХС ЛПНЩ). ІР оцінювали за індексом НОМА.

Генетичний поліморфізм IRS-1 встановлювали на підставі даних полімерної ланцюгової реакції з використанням специфічних праймерів: прямого – 5'AGTCTGGCTACTTGTCTG-GC3 і зворотного – 5'ATGAGTTGTCCCGTCAGA3 для сканування одонуклеотидного поліморфізму Gly972Arg. Продукти ампліфікації були інкубовані з рестриктазою AluI у буфері відповідно до інструкції виробника. Продукти гідролізу виділяли у 3% агарозному гелі та візуалізували. Були ідентифіковані три генотипи IRS-1 за поліморфізмом rs1801278 (Arg/Arg, Gly/Arg і Gly/Gly). Розподілення частот алелів відповідало закону Харді-Вайнберга.

Отримані результати були статистично оброблені методами варіаційної статистики з використанням комп'ютерної програми STATISTICA. Розраховували значення середнього арифметичного (M), помилки середнього арифметичного (m). Дані представлені у вигляді $M \pm m$. Результати генетичного аналізу оцінювали з використанням критерію χ^2 і визначенням достовірності методом Фішера. Під час аналізу значущості розходжень між двома групами за вираженістю показника, що вимірюється числом, використовували t-критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведеного дослідження було встановлено, що більше половини (52,13%) пацієнтів основної групи мали го-

мо- і гетерозиготний Gly972Arg-поліморфізм гена IRS-1 (табл. 1): у 10,64% пацієнтів – у вигляді гомозиготного генотипу Arg/Arg і у 41,49% пацієнтів – гетерозиготного генотипу Gly/Arg. Гомозиготний генотип Arg/Arg не був встановлений у жодного пацієнта контрольної групи, а гетерозиготний генотип Gly/Arg був виявлений лише у 10% практично здорових осіб, що достовірно ($p < 0,001$) відрізняло основну групу від контрольної. При цьому алель Arg, який, за даними низки науковців [6, 7, 16, 22], асоціюється з розвитком ЦД2, був встановлений у достовірно ($p < 0,001$) більшій кількості пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД2 порівняно з контрольною групою.

Таким чином, достовірні відмінності у розподілі генотипів пацієнтів основної групи та практично здорових осіб дозволили встановити асоціацію поліморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 з розвитком коморбідності – ГХ і ЦД2 – в українській популяції пацієнтів.

Наступний етап дослідження полягав у встановленні асоціації Gly972Arg-поліморфізму з біохімічними показниками у пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД2.

Установлено, що пацієнти з ГХ і супутнім ЦД2 та генотипом Arg/Arg мали достовірно ($p < 0,001$) вищі рівні ЗХС, тригліцеридів і ХС ЛПНЩ при відсутності достовірних різниць рівнів ХС ЛПВЩ порівняно з іншими варіантами генотипів (табл. 2).

Пацієнти основної групи при наявності гомозиготного генотипу Arg/Arg і гетерозиготного генотипу Gly/Arg мали достовірно ($p < 0,001$ і $p < 0,01$ відповідно) вищі рівні глюкози крові натще і HbA1c, ніж генотипу Gly/Gly. У той самий час, рівень інсуліну у пацієнтів з Gly/Gly-генотипом IRS-1 був достовірно ($p < 0,05$) нижчий, ніж з генотипом Arg/Arg.

Крім того, було встановлено, що індекс НОМА, значення якого свідчать про вираженість ІР, був найвищий у пацієнтів з Arg/Arg-генотипом, що достовірно ($p < 0,001$) відрізняло зазначений варіант генотипу від інших.

Таким чином, проведене дослідження встановило, що в українській популяції пацієнтів з коморбідною патологією – ГХ і супутнім ЦД2 поліморфний маркер rs1801278 гена IRS-1 асоціюється з розвитком ЦД2. Генетичний поліморфізм

Gly972Arg впливав на порушення біохімічних показників пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД2. Найбільш виражені порушення показників ліпідного і вуглеводного спектрів були характерні для пацієнтів з гомозиготним генотипом Arg/Arg.

ВИСНОВКИ

1. В українській популяції пацієнтів встановлена асоціація поліморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 з розвитком коморбідності – ГХ і ЦД2.

Асоціації поліморфізму гена IRS-1 с нарушениями липидного спектра крови при гипертонической болезни и сопутствующем сахарном диабете 2-го типа А.С. Шалимова

В последние годы инсулинорезистентность (ИР) рассматривают как независимый фактор риска дислипидемии, системного воспаления и окислительного стресса. Поэтому большое внимание ученые уделяют изучению генов, которые ассоциируются с развитием ИР – важного патогенетического механизма формирования сахарного диабета 2-го типа (СД2) и других заболеваний. В разных источниках можно найти много противоречивых фактов о роли полиморфизма субстрата инсулиновых рецепторов 1-го типа (IRS-1) в развитии ИР и ее последствий. Цель исследования заключалась в изучении полиморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 и его ассоциаций с показателями липидного спектра крови у пациентов с гипертонической болезнью (ГБ) и СД2. В украинской популяции пациентов установлена ассоциация полиморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 с развитием коморбидности – ГБ и СД2. Генетический полиморфизм Gly972Arg влиял на нарушение биохимических показателей пациентов с ГБ и сопутствующим СД2. Более выраженные нарушения показателей липидного и углеводного спектров были характерны для пациентов с гомозиготным генотипом Arg/Arg. Генотип Arg/Arg полиморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 был связан с повышением уровня атерогенных липопротеидов и более выраженной ИР.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, инсулинорезистентность, гипертоническая болезнь, генетический полиморфизм IRS-1.

2. Генетичний поліморфізм Gly972Arg впливав на порушення біохімічних показників пацієнтів з ГХ і супутнім ЦД2.

3. Більш виражені порушення показників ліпідного і вуглеводного спектрів були характерні для пацієнтів з гомозиготним генотипом Arg/Arg.

4. Генотип Arg/Arg поліморфного маркера rs1801278 гена IRS-1 був пов'язаний з підвищенням рівнів атерогенних ліпопротеїдів і більш вираженою ІР.

Association of IRS-1 gene polymorphism with violations of blood lipid spectrum in patients with essential hypertension and concomitant type 2 diabetes A.S. Shalimova

In recent years, insulin resistance (IR) is regarded as an independent risk factor for dyslipidemia, systemic inflammation and oxidative stress. Therefore, much attention is given to scientists studying genes that are associated with the development of IR – the important pathogenetic mechanism of formation of type 2 diabetes (DM2) and other diseases. Different sources can be found a lot of conflicting evidence about the role of polymorphism in insulin receptor substrate type 1 (IRS-1) in the development of IR and its consequences. The aim of the study was to examine the polymorphic marker rs1801278 IRS-1 gene and its association with indicators of lipid profile in patients with essential hypertension (EH) and DM2. In the Ukrainian population of patients established association of polymorphic marker rs1801278 gene IRS-1 with the development of comorbidity – EH and DM2. Genetic polymorphism Gly972Arg affect the violation of biochemical parameters of patients with EH and concomitant DM2. More severe violations of lipid and carbohydrate spectrum were characteristic of patients with homozygous genotype Arg/Arg. Arg/Arg genotype rs1801278 polymorphic marker gene IRS-1 was associated with increased levels of atherogenic lipoproteins and more pronounced IR.

Key words: type 2 diabetes, insulin resistance, essential hypertension, gene polymorphisms IRS-1.

Сведения об авторе

Шалимова Анна Сергеевна – Харьковская медицинская академия последипломного образования, 61176, г. Харьков, ул. Корчагинцев, 58. E-mail: annashalimova@yandex.ru

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Біловол О.М. Коморбідність гіпертонічної хвороби і цукрового діабету 2 типу – актуальна проблема сучасної медицини / О.М. Біловол, А.С. Шалимова, М.М. Кочува // Український терапевтичний журнал. – 2014. – № 1. – С. 11–17.
2. Инсулиновая резистентность: молекулярно-генетические механизмы развития, диагностика и коррекция при сахарном диабете тип 2 / Пособие для врачей под ред. М.И. Балаболкина. – М., 2007. – 36 с.
3. Майоров А.Ю. Инсулинорезистентность в патогенезе сахарного диабета 2 типа / А.Ю. Майоров // Сахарный диабет. – 2011. – № 1. – С. 35–43.
4. Проворотов В.М. Феномен инсулинорезистентности: механизмы формирования, возможности диагностики и способы коррекции на современном этапе / В.М. Проворотов, Е.С. Дробышева, М.Н. Бунина // Новые Санкт-Петербургские врачебные ведомости. – 2014. – № 1. – С. 82–85.
5. Aileen J.M. Human insulin receptor substrate-1 (IRS-1) polymorphism G972R causes IRS-1 to associate with the insulin receptor and inhibit receptor autophosphorylation / J.M. Aileen, P.F. Edward, K.J. Ronald // Biol. Chem. – 2005. – Vol. 280. – P. 6441–6446.
6. A replication study of the IRS1, CAPN10, TCF7L2, and PPARG gene polymorphisms associated with type 2 diabetes in two different populations of Mexico / L.E. Martínez-Gómez, M. Cruz, G.A. Martínez-Navas et al. // Ann. Hum. Genet. – 2011. – Vol. 75. – P. 612–620.
7. Association of Gly972Arg polymorphism of IRS-1 gene with type 2 diabetes mellitus in lean participants of a national health survey in Mexico: a candidate gene study / A.I. Burguete-Garcia, M. Cruz-Lopez, V. Madrid-Marina et al. // Metabolism. – 2010. – Vol. 59. – P. 38–45.
8. Bodhini D. Association Study of IRS1 Gene Polymorphisms with Type 2 Diabetes in South Indians / D. Bodhini, V. Radha, V. Mohan // Diabetes technology & therapeutics. – 2011. – Vol. 13, № 7. – P. 1–6.
9. Defects of the insulin receptor substrate (IRS) system in human metabolic disorders / G. Sesti, M. Federici, M.L. Hribal et al. // FASEB J. – 2001. – Vol. 15. – P. 2099–2111.
10. Genetic variation near IRS1 associates with reduced adiposity and an impaired metabolic profile / T.O. Kilpeläinen, M.C. Zillikens, A. Stancáková et al. // Nat. Genet. – 2011. – Vol. 43. – P. 753–760.
11. Genetic variant near IRS1 is associated with type 2 diabetes, insulin resistance and hyperinsulinemia / J. Rung, S. Cauchi, A. Albrechtsen et al. // Nat. Genet. – 2009. – Vol. 41. – P. 1110–1115.
12. Gly972Arg variant in the insulin receptor substrate-1 gene and association with Type 2 diabetes: a meta-analysis of 27 studies / A. Jellema, M.P. Zeegers, E.J. Feskens et al. // Diabetologia. – 2003. – Vol. 46. – P. 990–995.
13. IRS1 gene polymorphisms Gly972Arg and Ala513Pro are not associated with insulin resistance and type 2 diabetes risk in non-obese Turkish population / Hilal Arikoglu, Melda Aksoy Hepdogru, Dudu Erkoc Kaya et al. // Meta Gene. – 2014. – Vol. 2. – P. 579–585.
14. IRS1 G972R polymorphism and type 2 diabetes: a paradigm for the difficult ascertainment of the contribution to disease susceptibility of «low-frequency–low-risk» variant / E. Morini, S. Prudente, E. Succuro et al. Diabetologia. – 2009. – Vol. 52. – P. 1852–1857.
15. Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes / E. Zeggini, L.J. Scott, R. Saxena et al. Nat Genet. – 2008. – Vol. 40. – P. 638–645.
16. Molecular scanning for mutations in the insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene in Mexican Americans with type 2 diabetes mellitus / F.S. Celi, C. Negri, K. Tanner et al. Diabetes Metab. Res. Rev. – 2000. – Vol. 16. – P. 370–377.
17. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk / J. Dupuis, C. Langenberg, I. Prokopenko et al. // Nat. Genet. – 2010. – Vol. 42. – P. 105–116.
18. Optimisation of glycaemic control during episodes of severe/acute hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes mellitus / H. Zaman Huri, M. Makmor-Bakry, R. Hashim et al. // Int. J. Clin. Pharm. – 2012. – Vol. 34. – P. 863–870.
19. Orkunogulu Suer F.E. Molecular scanning for mutations in the insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene in Turkish population with type 2 diabetes mellitus // F.E. Orkunogulu Suer, H. Mergen, E. Bolu, M. Ozata // Endocrinol. J. – 2005. – Vol. 52. – P. 593–598.
20. Radha V. Genetic predisposition to type 2 diabetes among Asian Indians / V. Radha, V. Mohan // Indian J. Med. Res. – 2007. – Vol. 125. – P. 259–274.
21. Transgenic mice overexpressing human G972R IRS-1 show impaired insulin action and insulin secretion / M.L. Hribal, F. Tornei, A. Pujol et al. // J. Cell. Mol. Med. – 2008. – Vol. 12. – P. 2096–2106.
22. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis / B.F. Voight, L.J. Scott, V. Steinthorsdottir et al. // Nat. Genet. – 2010. – Vol. 42 (7). – P. 579–589.

Статья поступила в редакцию 27.05.2015