

©Коллектив авторов

## РОЛЬ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *GIPR* В РЕГУЛЯЦИИ СЕКРЕЦИИ ГОРМОНОВ И АДИПОКИНОВ ПРИ ОЖИРЕНИИ, ОСЛОЖНЁННОМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Д.А. Скуратовская<sup>1</sup>, М.А. Вульф<sup>1</sup>, Е.В. Кириенкова<sup>1</sup>, Н.И. Миронюк<sup>2</sup>, П.А. Затолокин<sup>1,2</sup>, Л.С. Литвинова<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Балтийский федеральный университет им. И. Канта,  
236038 Калининград, ул. Невского, 14; эл. почта: larisalitvinova@yandex.ru

<sup>2</sup>Областная клиническая больница Калининградской области, Калининград

Исследованы взаимосвязи полиморфизмов rs2302382, rs8111428 и Glu354Gln (rs1800437) гена рецептора глюкозозависимого инсулиотропного полипептида GIP (*GIPR*) с плазменными уровнями медиаторов, участвующих в регуляции углеводного обмена у больных ожирением с СД 2 типа (натощак и после тестового завтрака). Установлен вклад полиморфных вариантов rs2302382, rs8111428 гена *GIPR* в формирование СД 2 типа у лиц, относящихся к восточнославянской популяции России. Охарактеризовано неравновесное сцепление между полиморфизмами rs2302382 и rs8111428 в гене *GIPR*. Установлено, что снижение уровня экспрессии гена *GIPR* в жировой ткани брыжейки тонкого кишечника у носителей генотипа CC rs2302382 и AA rs8111428 ассоциировано с повышением плазменного уровня лептина, тогда как при нормальной его экспрессии регистрируется рост плазменного содержания инсулина, GIP (у лиц с генотипом CA полиморфизма rs2302382 и AG полиморфизма rs8111428), резистина и грелина (у лиц с генотипом CA полиморфизма rs2302382). Мы предполагаем стимулирующий эффект GIP на секрецию резистина, лептина и грелина посредством увеличения продукции инсулина у больных ожирением с СД 2 типа.

**Ключевые слова:** инкретины, адипокины, глюкозозависимый инсулиотропный полипептид, гормоны, экспрессия гена, полиморфизм

**DOI:** 10.18097/PBMC20186402208

### ВВЕДЕНИЕ

Гормон инкретинового ряда – глюкозозависимый инсулиотропный полипептид (GIP), секретируемый К-клетками желудочно-кишечного тракта [1], – оказывает глюкозозависимое стимулирующее воздействие на секрецию инсулина, способствуя тем самым, быстрому поглощению глюкозы [2, 3]. При гипергликемии GIP способствует увеличению секреции инсулина [4], тогда как при гипогликемии его действие направлено на повышение продукции глюкагона клетками поджелудочной железы [4]. Проявляя глюкагонотропные эффекты, GIP репрессирует инсулиотропные [4].

GIP играет регуляторную роль в жировом обмене [5], воздействуя на липопротеинлипазу адипоцитов [6], аналогично механизму действия инсулина. Исследования *in vitro* показали, что GIP стимулирует гидролиз триглицеридов и липогенез за счёт увеличения поглощения свободных жирных кислот адипоцитами [6]. Эффекты GIP на липопротеинлипазу опосредованы регуляцией секреции резистина [5], который нарушает сигнализацию инсулина и способствует развитию окислительного стресса в сосудистых клетках человека [7].

С другой стороны, стимулируя экспрессию провоспалительных факторов и хемокинов, GIP способствует ухудшению чувствительности адипоцитов к инсулину и формированию воспаления жировой ткани [2, 8].

Физиологические эффекты GIP опосредованы через активацию рецептора *GIPR*, который

принадлежит к семейству G-белковых рецепторов (GPCR), содержащих 7 трансмембранных доменов [9]. *GIPR* вызывает G-опосредованную продукцию cAMP и запуск последующих сигнальных каскадов [9]. Связывание GIP с его рецептором (*GIPR*) активирует несколько внутриклеточных сигнальных путей, которые усиливают экзоцитоз инсулиновых гранул и продукцию инсулина [8, 10].

В связи с этим, целью исследования явилась оценка взаимосвязи полиморфных вариантов rs2302382 rs8111428 Glu354Gln гена *GIPR* с плазменными уровнями медиаторов, участвующих в регуляции углеводного обмена – гормонов гастродуоденальной зоны (инсулин, С-пептид, глюкагон, GIP, глюкагоноподобный пептид-1 (GLP-1), грелин) и адипокинами (резистин, лептин, висфатин) натощак и после тестового завтрака.

### МЕТОДИКА

В основу проведенного исследования положены результаты комплексного клиничко-лабораторного обследования 328 человек. Пациенты, страдающие ожирением алиментарно-конституционального характера с абдоминальным типом локализации (n=191), были разделены на две группы: 90 пациентов с ожирением с СД 2 типа (индекс массы тела (ИМТ)=43,70±9,32 кг/м<sup>2</sup>, 39 мужчин, 51 женщина, возраст 46,5±10,1 лет) составили группу 2; 101 больной ожирением без нарушений углеводного обмена (ИМТ=36,13±6,72 кг/м<sup>2</sup>, 43 мужчины, 58 женщин, 43,93±8,35 лет) – группу 3. Контрольная группа (группа 1) включала 137 условно здоровых

доноров с нормальными антропометрическими и биохимическими показателями ( $22,6 \pm 2,7$  кг/м<sup>2</sup>, 84 мужчины, 53 женщины,  $39,5 \pm 7,6$  лет).

Диагноз СД 2 типа устанавливали на основании обследования в условиях специализированного стационара, руководствуясь критериями диагностики сахарного диабета и других типов гипергликемии Всемирной организации здравоохранения (1999–2013). Со всеми пациентами было подписано добровольное информированное согласие на исследование. Разрешение на проведение исследования получено в локальном этическом комитете (протокол №2 БФУ им. И. Канта от 6 марта 2017). Образцы геномной ДНК экстрагировали из крови с использованием наборов QIAmp DNA MiniKit (“QIAGEN GmbH”, Германия) с последующим генотипированием методом ПЦР в режиме реального времени с использованием наборов для определения полиморфизмов rs2302382, rs8111428 и Glu354Gln гена *GIPR* (ЗАО “Синтол”, Россия) на амплификаторе CFX96 “Bio-Rad” (США), согласно протоколу производителя.

Материалом для исследования уровня экспрессии гена *GIPR* служила белая жировая ткань брыжейки тонкого кишечника, взятая при проведении плановых бариатрических операций у пациентов. Оценка уровня экспрессии гена *GIPR* проводилась методом количественной ПЦР в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 “Bio-Rad”, с использованием реагентов qPCRmix-HS SYBR (“Евроген”, Россия). Результаты ПЦР анализировали с помощью метода максимума второй производной (Second Derivative Maximum method). В качестве нормировочного гена использовали бета-2-микроглобулин (B2M) [11]. Расчеты уровней относительной экспрессии исследуемых генов производили с помощью модифицированной формулы Пфаффа [12].

Биохимические показатели крови определяли на биохимическом анализаторе Furuno CA-180 (“Furuno Electric Company”, Япония) с использованием тест-систем DiaSys (“DiaSys Diagnostic Systems”, Германия). Содержание С-пептида, инсулина, глюкагона, грелина, GIP, GLP-1, лептина, резистина, висфатина в плазме крови натощак и после тестового завтрака через 60 минут оценивали методом проточной флуориметрии на двухлучевом лазерном автоматизированном анализаторе (Bio-Plex Protein Assay System, “Bio-Rad”) с использованием коммерческих тест-систем (Bio-Plex Pro Human Diabetes 10-Plex Assay, “Bio-Rad”).

Статистический анализ и графики были получены в R Statistical Software (версия 3.3.1). Исследование неравновесного сцепления генотипов было определено в программе Haploview 4.2. Проверка экспериментальных данных на нормальное распределение осуществлялась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. При соответствии нормальному закону распределения признака в исследуемых выборках проверку гипотезы о равенстве средних выборочных величин осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Если распределение данных не подчинялось нормальному закону распределения, дальнейшая оценка различий между выборками

рассчитывалась с помощью непараметрических критериев Манна-Уитни для попарных сравнений и Краскела-Уоллиса для множественных сравнений с поправкой Бонферрони. Наличие связи между изучаемыми показателями проводили с использованием корреляционного анализа по методу Спирмена. Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении сравнительного анализа биохимических показателей данных о плазменном содержании адипокинов и гормонов гастродуоденальной зоны, уровней экспрессии гена *GIPR* в жировой ткани (брыжейка тонкой кишки), а также результатов генотипирования у пациентов с ожирением без или с СД 2 типа в зависимости от половых и возрастных критериев достоверных различий нами обнаружено не было.

В группе больных ожирением с и без СД 2 типа показатели липидного обмена не выходили за пределы референсных значений (табл. 1). Тем не менее, у больных ожирением с СД 2 типа уровень триглицеридов оказался более высоким в сравнении с контрольной группой. Пониженный уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) регистрировался в группах с ожирением с СД 2 типа и без него, что соответствовало значениям 1,09 (0,88–1,15) и 1,17 (0,96–1,33) ммоль/л по сравнению с параметрами контрольной группы ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что сывороточные значения ЛПВП в группах с ожирением и без СД 2 типа варьировали в пределах референсных значений (табл. 1).

Показатели общей фракции холестерина сыворотки у больных ожирением без СД 2 типа 4,40 (3,39–4,92) ммоль/л были ниже в сравнении с результатами группы пациентов с ожирением с СД 2 типа (5,05 (4,26–5,95) ммоль/л,  $p < 0,05$ ) и контроля (4,89 (4,42–5,20) ммоль/л,  $p < 0,05$ ).

Значения сывороточного содержания глюкозы и индекса инсулинорезистентности – HOMA-IR закономерно оказались выше у больных ожирением с СД 2 типа по сравнению с аналогичными параметрами контроля и группы пациентов с ожирением без СД 2 типа (табл. 1).

В проведенном исследовании в группе больных СД 2 типа установлено повышение плазменного уровня GIP, инсулина, резистина и лептина натощак и после тестового завтрака по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ) (табл. 2). У больных СД 2 типа плазменные уровни GIP натощак были взаимосвязаны с глюкозой ( $r = 0,48$ ), липопротеинами низкой плотности (ЛПНП) ( $r = 0,44$ ), грелином ( $r = 0,63$ ), резистином ( $r = 0,66$ ) и инсулином ( $r = 0,82$ ) ( $p < 0,05$ ). Мы предполагаем, что изменение плазменных показателей исследованных метаболитов может быть опосредовано генетическими особенностями рецепторного сигналинга *GIPR*.

Результатами анализа многочисленных кросс-секционных популяционных исследований было обнаружено, что однонуклеотидные полиморфизмы

# ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА *GIPR* ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

Таблица 1. Основные биохимические показатели исследуемых групп

Показатели	Показатели исследуемых групп		
	Контрольная группа (Группа 1; n=137)	Больные ожирением с СД 2 типа (Группа 2; n=90)	Пациенты с ожирением без СД 2 типа (Группа 3; n=101)
Глюкоза (3,9 – 6,4) ммоль/л	5,23 (4,90 – 5,45)	7,80 (6,64 – 10,39) $p_{1-2}=0,001^*$	5,77 (5,34 – 6,11) $p_{2-3}=0,015^*$ $p_{1-3}=0,001^*$
Холестерин (до 5,2) ммоль/л	4,89 (4,42 – 5,20)	5,05 (4,26 – 5,95) $p_{1-2}=0,211$	4,40 (3,39 – 4,92) $p_{2-3}=0,021^*$ $p_{1-3}=0,048^*$
ЛПВП–ХС (0,78 – 2,2) ммоль/л	1,42 (1,23 – 1,73)	1,09 (0,88 – 1,15) $p_{1-2}=0,008^*$	1,17 (0,96 – 1,33) $p_{2-3}=0,769$ $p_{1-3}=0,049^*$
ЛПНП–ХС (до 3,4) ммоль/л	2,69 (2,36 – 2,95)	2,92 (2,31 – 3,39) $p_{1-2}=0,286$	2,45 (1,85 – 2,84) $p_{2-3}=0,101$ $p_{1-3}=0,337$
Триглицериды (до 2,43) ммоль/л	0,71 (0,56 – 0,99)	1,62 (1,12 – 2,04) $p_{1-2}<0,001^{**}$	1,10 (0,77 – 1,81) $p_{2-3}=0,063$ $p_{1-3}=0,118$
НОМА–IR Усл.ед.	1,17 (0,79–1,65)	12,4 (9,7–23,5)* $p_{1-2}=0,003^*$	2,23 (1,08 – 13,84) $p_{1-3}=0,043^*$ $p_{2-3}=0,014^*$

Примечание. Здесь и в таблице 2: \* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,001$ , значимость определена при использовании непараметрического критерия Манна-Уитни для двух несвязанных выборок, ( $Me\pm Q1-Q3$ ).

Таблица 2. Уровень гормонов гастродуоденальной зоны и адипокинов у пациентов с и без СД 2 типа до и после тестового завтрака

Исследуемые группы	Контрольная группа		Пациенты больные ожирением с СД 2 типа		Пациенты больные ожирением без СД 2 типа	
	n=137		n=90		n=101	
Показатели, нг/мл	До завтрака 1	После завтрака 2	До завтрака 3	После завтрака 4	До завтрака 5	После завтрака 6
GIP	37,2 (26,27 – 45,1)	111,4 (74,2 – 159,1) $p_{1-2}=0,005^*$	82,2 (61,4 – 175,26) $p_{1-3}<0,001^*$	314,9 (242 – 712) $p_{3-4}<0,001^*$ $p_{2-4}=0,001^*$	35,1 (26,6 – 43,2) $p_{3-5}<0,001^*$	77,5 (17,3 – 146) $p_{4-6}<0,001^*$
Инсулин	44,8 (30,2 – 61,25)	111,2 (79,5 – 201) $p_{1-2}=0,01^*$	374 (162 – 915) $p_{1-3}<0,001^*$	944,19 (316 – 2189) $p_{3-4}<0,001^*$ $p_{2-4}<0,001^*$	144,5 (71,1 – 228,8) $p_{1-5}=0,0018^*$ $p_{3-5}<0,001^*$	226 (72,7 – 328) $p_{4-6}<0,001^*$ $p_{4-6}<0,001^*$
Резистин	1444 (869 – 2559)	1092 (681 – 2627)	3465 (966 – 6592) $p_{1-3}=0,046^*$	3203 (1398 – 7063) $p_{2-4}=0,049^*$	1758 (1256 – 1890)	1400 (129 – 1801) $p_{4-6}=0,008^*$
Лептин	402 (173 – 572)	331,5 (224 – 469)	5638 (1993 – 8439) $p_{1-3}<0,001^*$	3823,9 (2504 – 6736) $p_{2-4}<0,001^*$	1745 (1458 – 1906) $p_{1-5}=0,001^*$ $p_{3-5}=0,001^*$	1468 (600 – 1547) $p_{2-6}=0,03^*$ $p_{4-6}<0,001^*$
Грелин	81,14 (52,79 – 94,97)	55,5 (50,8 – 81,4) $p_{1-2}=0,046^*$	97 (72,6 – 120,6)	100 (77,7 – 135) $p_{2-4}=0,007^*$	43,5 (34 – 57,1) $p_{1-5}=0,005^*$ $p_{3-5}<0,001^*$	33,1 (11,8 – 47,8) $p_{2-6}<0,001^*$ $p_{4-6}<0,001^*$

rs2302382, rs8111428, Glu354Gln гена *GIPR* являются функционально значимыми и ассоциированными с развитием различных метаболических нарушений. В гене *GIPR* выявлено несколько полиморфизмов, тесно связанных с ИМТ [10], СД 2 типа и ожирением [13]. Полиморфизм rs2302382 локализован в интроне 1 и расположен в предполагаемой регуляторной области [13]. Установлена ассоциация

генотипа AA однонуклеотидного полиморфизма rs2302382 гена *GIPR* с повышенным риском развития СД 2 типа, генотипа СА – с пониженным [14]. Ещё один полиморфизм – rs8111428, обнаружен в гене *GIPR* с локализацией в 5'-нетранслируемой области в регионе предполагаемого промотора, однако ассоциаций с какими-либо метаболическими нарушениями выявлено не было [13, 14].

Данные, касающиеся взаимосвязей полиморфизма Glu354Gln с метаболическими нарушениями, полученные разными авторами, зачастую, противоречивы. В исследованиях других авторов у носителей аллеля С Glu354Gln с сердечно-сосудистыми заболеваниями описано снижение уровня С-пептида и холестерина [16, 17]. В немецких семьях с ожирением выявлена тенденция аллеля G полиморфизма Glu354Gln гена *GIPR* к более частому его наследованию у детей с тяжелой формой ожирения [13]. Тогда как некоторые исследования не выявили связи полиморфизма Glu354Gln с увеличением ИМТ [16, 17] или с развитием инсулиннезависимого СД [15, 16, 18].

Распределение частот аллелей и генотипов представлены в таблице 3. У пациентов с ожирением без СД 2 типа полиморфизмы в нетранслируемой области rs2302382 и rs8111428 гена *GIPR* находились в неравновесном сцеплении ( $D'=66$ ,  $r^2=39$ ) (рис. 1). Исследование неравновесного сцепления полиморфизмов rs2302382, rs8111428 и Glu354Gln гена *GIPR* с плазменными уровнями гормонов и адипокинов взаимосвязей не выявило (табл. 4).

Исследование уровня экспрессии гена *GIPR* в жировой ткани брыжейки тонкого кишечника обнаружило его снижение относительно контроля в 6 раз в группе больных ожирением с СД 2 типа ( $p<0,05$ ), тогда как у больных без СД 2 типа

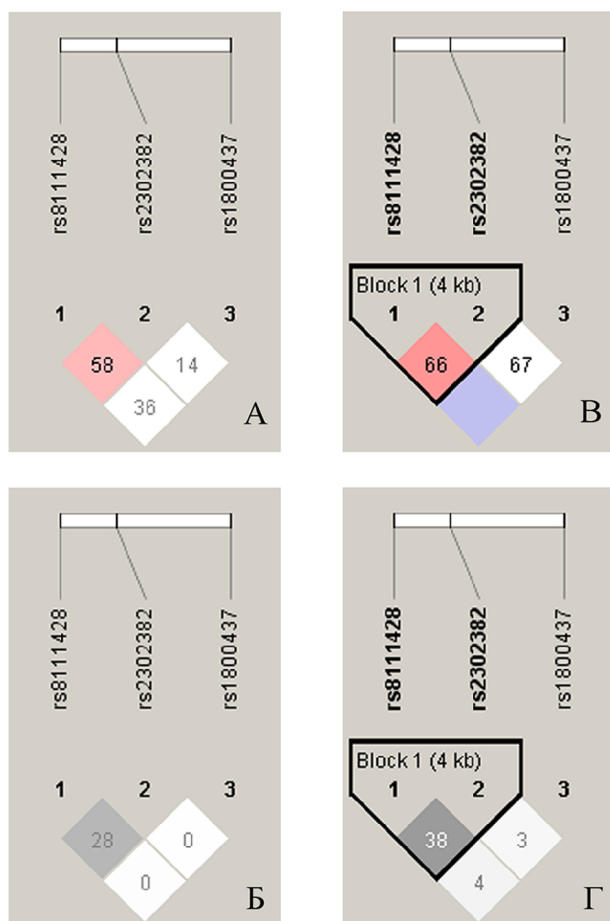
Таблица 3. Распределение частот встречаемости аллелей и генотипов полиморфизмов rs2302382, rs8111428 и Glu354Gln гена *GIPR* в исследуемых группах

Исследуемые группы	Распределение частот генотипов полиморфизма rs2302382			Распределение частот аллелей	
	CC	CA	AA	C	A
Контрольная группа (1), n=137	57,10%	41,40%	1,40%	77,90%	22,10%
Пациенты больные ожирением с СД 2 типа (2), n=90	65,60%	22,20%	12,20%	76,70%	23,30%
Пациенты больные ожирением без СД 2 типа (3), n=101	59,40%	37,60%	3,00%	78,20%	21,80%
Исследуемые пациенты	Распределение частот генотипов полиморфизма rs8111428			Распределение частот аллелей	
	AA	AG	GG	A	G
Контрольная группа (1), n=137	60,30%	38,10%	1,60%	79,40%	20,60%
Пациенты больные ожирением с СД 2 типа (2), n=90	69,10%	25,90%	4,90%	81,20%	17,90%
Пациенты больные ожирением без СД 2 типа (3), n=101	64,80%	33,00%	2,20%	81,30%	18,70%
Исследуемые пациенты	Распределение частот генотипов полиморфизма rs1800437 (Glu354Gln)			Распределение частот аллелей	
	GG	GC	CC	G	C
Контрольная группа (1), n=137	79,40%	16,20%	4,40%	87,50%	12,50%
Пациенты больные ожирением с СД 2 типа (2), n=90	56,30%	39,40%	4,20%	76,10%	23,90%
Пациенты больные ожирением без СД 2 (3), n=101	69,60%	23,20%	7,10%	81,30%	18,80%

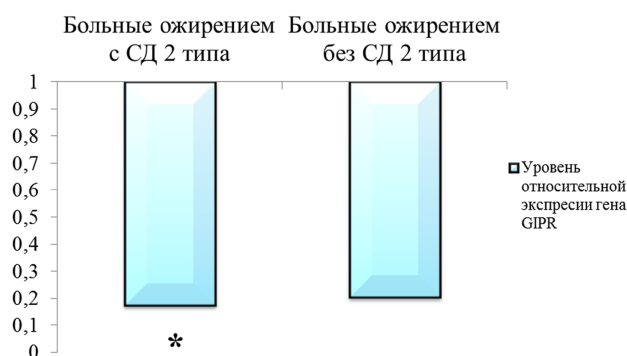
Таблица 4. Распределение частот гаплотипов полиморфизмов rs8111428 и rs2302382 гена *GIPR*

Гаплотип	Частоты гаплотипов			OR	P
	Общая	Здоровые доноры	Больные ожирением без СД 2 типа		
rs8111428(A/C)rs2302382	0,72	0,69	0,73	0,72	0,45
rs8111428(G/A)rs2302382	0,15	0,18	0,133	0,15	0,25
rs8111428(A/A)rs2302382	0,076	0,74	0,077	0,076	0,91
rs8111428(G/C)rs2302382	0,052	0,049	0,054	0,052	0,83

Примечание: OR - отношение шансов.



**Рисунок 1.** Структура неравновесного сцепления (LD), описывающая положение трёх полиморфизмов rs2302382 rs8111428 Glu354Gln (rs1800437) гена *GIPR*. А - блок сцепления полиморфизмов rs2302382 rs8111428 в группе больных ожирением с СД 2 типа (значения коэффициента неравновесия по сцеплению LD (D')), Б - блок сцепления полиморфизмов rs2302382 rs8111428 в группе больных ожирением с СД 2 типа (значение коэффициента корреляции ( $r^2$ ), представленного в процентах) В - блок сцепления полиморфизмов rs2302382 rs8111428 в группе больных ожирением без СД 2 типа (значения коэффициента неравновесия по сцеплению LD (D')), Г - блок сцепления полиморфизмов rs2302382 rs8111428 в группе больных ожирением без СД 2 типа (значение коэффициента корреляции ( $r^2$ ), представленного в процентах).



**Рисунок 2.** Уровень относительной экспрессии гена *GIPR* в группах больных ожирением с и без СД 2 типа. \* -  $p < 0,05$ .

её уровень не изменялся (рис. 2). В исследовании, проведенном Seruuelo-Mallafre и соавт. показано снижение экспрессии гена *GIPR* в подкожной жировой ткани [19]. Кроме того, авторами выявлена отрицательная корреляция между экспрессией гена *GIPR* в подкожной жировой ткани с ИМТ, окружностью талии, сывороточным содержанием глюкозы и триглицеридов у пациентов с ожирением [19]. В нашей работе аналогичных закономерностей обнаружено не было.

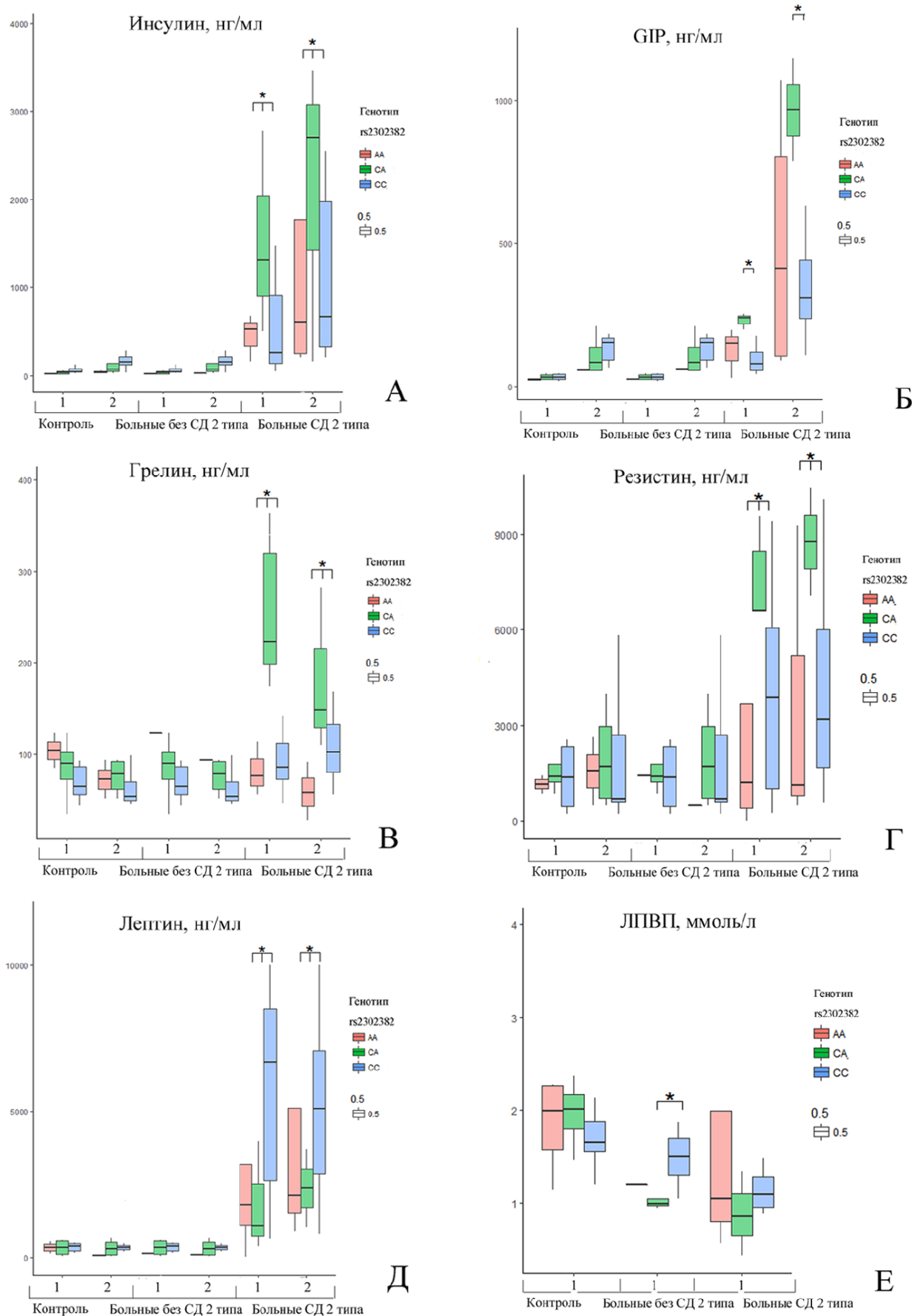
Исследование уровня экспрессии гена *GIPR* в жировой ткани брыжейки тонкого кишечника в зависимости от генотипа пациента выявило у лиц-носителей генотипа СС полиморфизма rs2302382 гена *GIPR* его снижение относительно контроля в 9 раз ( $p < 0,05$ ) в группе больных ожирением с СД 2 типа. В данном типе ткани у лиц-носителей генотипа АА полиморфизма rs8111428 уровень экспрессии гена *GIPR* снижался в 10 раз ( $p < 0,05$ ) относительно контроля в группе пациентов с СД 2 типа. В предыдущих наших исследованиях мы предполагали участие полиморфизма rs2302382 гена *GIPR* в регуляции транскрипции гена *GIPR* [14]. В данном исследовании это предположение подтвердилось: наличие генотипов СС полиморфизма rs2302382 и АА полиморфизма rs8111428 способствует снижению уровня экспрессии гена *GIPR* в биоптатах жировой ткани брыжейки тонкого кишечника у больных ожирением с СД 2 типа.

У носителей всех генотипов полиморфизма Glu354Gln экспрессия гена *GIPR* была снижена по сравнению с контролем: GG – в 6 раз, в GC – в 25 раз, CC – в 33 раза ( $p < 0,05$ ), соответственно, что может свидетельствовать об отсутствии влияния данного полиморфизма на активность гена *GIPR*.

Возможно, снижение уровня экспрессии гена *GIPR* взаимосвязано с изменением плазменного уровня одноименного инкретина. Almgren и соавт. установили взаимосвязь некоторых полиморфных вариантов гена *GIPR* с его экспрессией в островках Ларгенганса поджелудочной железы и плазменным уровнем инкретина [20], что подтверждается и в нашем исследовании.

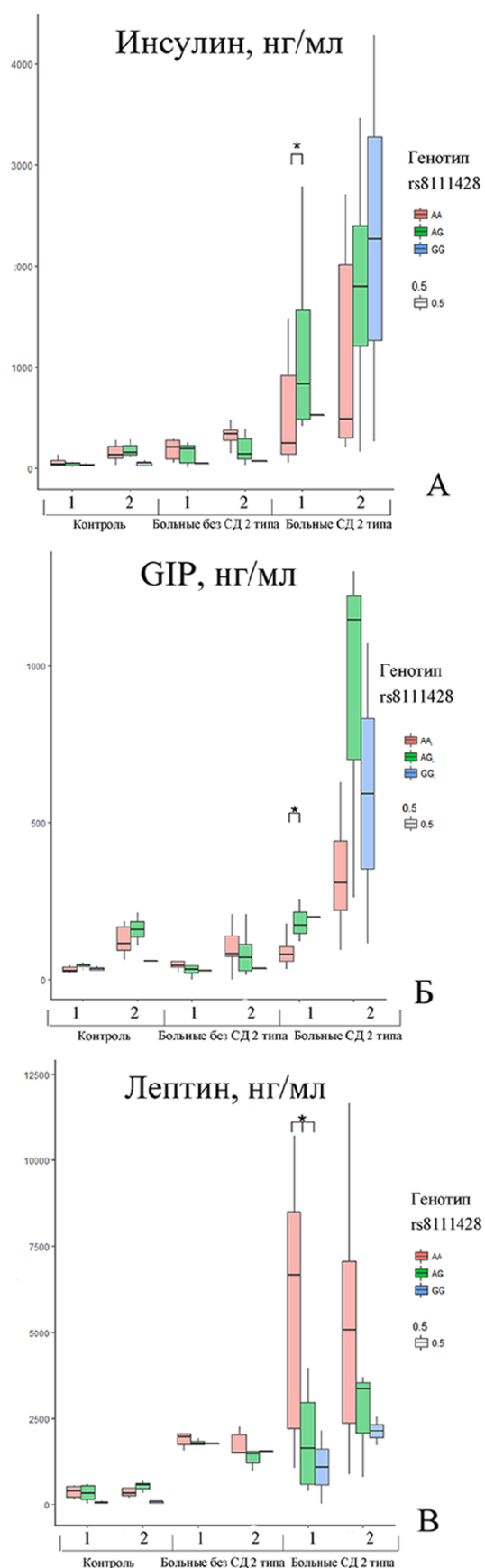
Как уже упоминалось ранее, связывание GIP с его рецептором (GIPR) активирует несколько внутриклеточных сигнальных путей, которые усиливают продукцию инсулина и GIP [8, 10]. Носители генотипа СА полиморфизма rs2302382 гена *GIPR* имели более высокие показатели инсулина (рис. 3а), а генотипа АГ полиморфизма rs8111428 гена *GIPR* – высокий уровень инсулина натошак по сравнению с пациентами с генотипом АА (рис. 4а). Принимая во внимание наличие блока сцепления полиморфизмов rs2302382 и rs8111428 в гене *GIPR*, мы можем предположить, что данные полиморфные варианты оказывают воздействие на секрецию инсулина, опосредованного инкретином.

GIP играет регуляторную роль в жировом обмене [3], а его эффекты на липопротеинлипазу адипоцитов могут быть опосредованы регуляцией секреции резистина [3]. Носители генотипа



**Рисунок 3.** Плазменное содержание гормонов и адипокинов в зависимости от генотипа полиморфизма rs2302382 гена *GIPR*. 1 - натощак, 2 - после тестового завтрака, а - инсулин, б - GIP, в - грелин, г - резистин, д - лептин, е - ЛПВП.

## ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА *GIPR* ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА



**Рисунок 4.** Плазменное содержание гормонов и адипокинов в зависимости от генотипа полиморфизма rs8111428 гена *GIPR*. 1 - натощак, 2 - после тестового завтрака, а - инсулин, б - GIP, в - лептин.

СА полиморфизма rs2302382 гена *GIPR* имели более высокие показатели GIP и резистина (натощак и после тестового завтрака, соответственно) (рис. 36,г), а лица с генотипом AG rs8111428 гена *GIPR* – повышенный постприанальный уровень GIP (рис. 4б) по сравнению с носителями других генотипов в группе больных ожирением с СД 2 типа. Учитывая установленную нами взаимосвязь плазменных уровней GIP инсулина и резистина, мы предполагаем стимулирующий эффект GIP на секрецию резистина, ассоциированную с наличием генотипов rs2302382 и rs8111428 гена *GIPR*, через повышение продукции инсулина у больных ожирением с СД 2 типа.

Исследования *in vitro* показали, что GIP стимулирует гидролиз триглицеридов и липогенез за счёт увеличения поглощения свободных жирных кислот адипоцитами [8]. Выявлены положительные корреляционные взаимосвязи между плазменными уровнями GIP и ЛПНП ( $r=0,44$ ) натощак у пациентов с ожирением без СД 2 типа ( $p<0,05$ ). Уровень ЛПВП у носителей генотипа СА полиморфизма rs2302382 гена *GIPR* был ниже такового у больных с генотипом СС в группе пациентов с ожирением без СД 2 типа (рис. 3е), что указывает на негативную роль GIP в отношении липидного обмена у пациентов с ожирением без СД 2 типа.

Адипокин лептин нарушает функционирование субстрата инсулинового рецептора, что является одной из причин развития инсулинорезистентности у пациентов с СД 2 типа [21, 22]. Данные адипокины существенно влияют на чувство насыщения и энергетический метаболизм, участвуя в развитии инсулинорезистентности [21, 23]. При этом постприанальный плазменный уровень лептина в контрольной группе положительно коррелировал с содержанием инсулина ( $r=0,56$ ), а у больных СД 2 типа – глюкозога ( $r=0,5$ ) ( $p<0,05$ ), что свидетельствует о резистентности тканей к лептину у последних. У лиц с генотипом СС rs2302382 и генотипом АА полиморфизма rs8111428 гена *GIPR* плазменные показатели лептина натощак превосходили показатели у пациентов с другими генотипами в группе больных ожирением с СД 2 типа (рис. 3д, 4в). В связи с этим, наличие генотипа СС полиморфизма rs2302382 и генотипа АА полиморфизма rs8111428 гена *GIPR* может способствовать росту плазменного уровня лептина у больных СД 2 типа.

В литературе описана взаимосвязь между лептином, инсулином и грелином [22]. Грелин участвует в регуляции энергетического баланса, включая метаболизм глюкозы [24]. В проведенном исследовании данная взаимосвязь подтверждалась положительной корреляцией постприанальных плазменных уровней грелина с инсулином ( $r=0,51$ ,  $p<0,05$ ) и резистином ( $r=0,6$ ,  $p<0,05$ ) у больных СД 2 типа. Уровень грелина натощак был выше у пациентов с генотипом СА полиморфизма rs2302382 гена *GIPR* по сравнению с носителями других генотипов (рис. 3в) в группе больных ожирением с СД 2 типа. Таким образом, наличие



генотипа СА полиморфизма rs2302382 гена *GIPR* оказывает влияние на рост плазменного уровня грелина у больных ожирением с СД 2 типа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных ожирением с СД 2 типа повышение плазменных уровней С-пептида и инсулина после тестового завтрака, а также наличие корреляционных взаимосвязей между ними, свидетельствует о сохранении функциональной активности  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. В то же время рост постпрандиальной продукции GIP, взаимосвязанный с уровнем инсулина у этой категории лиц, может свидетельствовать о глюкозозависимом инсулиноотропном эффекте GIP.

Охарактеризовано неравновесное сцепление между полиморфизмами rs2302382 и rs8111428 в гене *GIPR*. Установлено снижение уровня экспрессии гена *GIPR* в жировой ткани брыжейки тонкого кишечника у больных ожирением с СД 2 типа. В данной группе регуляция транскрипции гена *GIPR* в жировой ткани брыжейки тонкого кишечника зависит от генотипов его полиморфных вариантов rs2302382 и rs8111428, располагающихся в нетранслируемой области, что вносит вклад в формирование плазменных уровней гормонов гастродуоденальной зоны (инсулина, грелина, GIP), адипокинов (лептина, резистина). Так, снижение уровня экспрессии гена *GIPR* у носителей генотипа CC rs2302382 и AA rs8111428 было ассоциировано с ростом плазменного уровня лептина, тогда как при нормальной его экспрессии отмечено повышение плазменного содержания инсулина, GIP (у лиц с генотипом СА полиморфизма rs2302382 и AG полиморфизма rs8111428), резистина и грелина (у лиц с генотипом СА полиморфизма rs2302382). Мы предполагаем стимулирующий эффект GIP на секрецию резистина, лептина и грелина у больных ожирением с СД 2 типа, реализованный посредством увеличения продукции инсулина.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках Программы повышения конкурентоспособности (“Дорожной карты”), субсидии “Организация проведения научных исследований 20.4986.2017/6.7” Балтийского федерального университета им. Иммануила Канта и при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-015-00084-а.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Yabe D., Seino Y. (2013) *Curr. Opin. Pharmacol.*, **13**, 946-953.
2. Gögebakan Ö., Osterhoff M.A., Schüler R., Pivovarova O., Kruse M., Selmann A.C., Mosig A.S., Rudovich N., Nauck M., Pfeiffer A.F. (2015) *Diabetologia*, **58**, 1759-1768.

3. Pederson R.A., McIntosh C.H. (2016) *J. Diabetes Investig.*, **7**(Suppl 1), 4-7.
4. Finan B., Müller T.D., Clemmensen C., Perez-Tilve D., DiMarchi R.D., Tschöp M.H. (2016) *Trends Mol.*, **22**, 359-376.
5. Kim S.J., Nian C., McIntosh C.H. (2013) *Diabetes*, **62**, 471-477.
6. Kim S.J., Nian C., McIntosh C.H. (2010) *J. Lipid Res.*, **51**, 3145-3157.
7. Kusminski C.M., McTernan P.G., Kumar S. (2005) *Clin. Sci. (Lond.)*, **109**, 243-256.
8. Chen S., Okahara F., Osaki N., Shimotoyodome A. (2015) *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **308**, 414-425.
9. Ismail S., Dubois-Vedrenne I., Laval M., Tikhonova I.G., D'Angelo R., Sanchez C., Clerc P., Gherardi M.J., Gigoux V., Magnan R., Fourmy D. (2015) *Mol. Cell Endocrinol.*, **15**(414), 202-215.
10. Nielsen S.T., Janum S., Krogh-Madsen R., Solomon T.P., Møller K. (2015) *Crit. Care*, **16**, 402.
11. Vandesompele J., De Preter K., Pattyn F., Poppe B., Van Roy N., De Paepe A., Speleman F. (2002) *Genome Biol.*, **3**(7).
12. Pfaffl M.W. (2001) *Nucl. Acids Res.*, **29**(9), 45.
13. Vogel C.I., Scherag A., Brönnner G., Nguyen T.T., Wang H.J., Grallert H., Bornhorst A., Rosskopf D., Völzke H., Reinehr T., Rief W., Illig T., Wichmann H.E., Schäfer H., Hebebrand J., Hinney A. (2009) *BMC Med. Genet.*, **10**, 19.
14. Скуратовская Д.А., Василенко М.А., Фаттахов Н.С., Кириенкова Е.В., Миронюк Н.И., Затолокин П.А., Литвинова Л.С. (2016) *Сахарный диабет*, **19**(6), 457-463.
15. Sauber J., Grothe J., Behm M., Scherag A., Grallert H., Illig T., Hinney A., Hebebrand J., Wiegand S., Grüters A., Krude H., Biebermann H. (2010) *Eur. J. Endocrinol.*, **163**, 259-264.
16. Almind K., Ambye L., Urhammer S.A., Hansen T., Echwald S.M., Holst J.J., Gromada J., Thorens B., Pedersen O. (1998) *Diabetologia*, **41**, 1194-1198.
17. Nitz L., Fisher E., Weikert C., Burwinkel B., Li Y., Möhlig M., Boeing H., Schreiber S., Schrezenmeier J., Döring F. (2007) *Mol. Nutr. Food Res.*, **51**, 1046-1052.
18. Da Silva Mattos A.M., Ludwig N.G., Koga G.K.C., Costa S.C., Amarante M.K., Mazzucco T.L. (2015) *Diabetol. Metab. Syndr.*, **7**(1), A200. DOI: 10.1186/1758-5996-7-S1-A200.
19. Ceperuelo-Mallafre V., Duran X., Pachón G., Roche K., Garrido-Sánchez L., Vilarrasa N., Tinahones F.J., Vicente V., Pujol J., Vendrell J., Fernández-Veledo S. (2014) *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **99**(5), E908-E919.
20. Almgren P., Lindqvist A., Krus U., Hakaste L., Ottosson-Laakso E., Asplund O., Sonestedt E., Prasad R.B., Laurila E., Orho-Melander M. et al. (2017) *JCI Insight*, **2**(21), pii: 93306. DOI: 10.1172/jci.insight.93306.
21. Василенко М.А., Кириенкова Е.В., Скуратовская Д.А., Затолокин П.А., Миронюк Н.И., Литвинова Л.С. (2017) *Докл. РАН*, **475**(3), 336-341.
22. Gerrits A., Gitz E., Koekman C., Visseren F., van Haefst T., Akkerman J. (2011) *Haematologica*, **97**, 1149-1157.
23. Ronveaux C.C., Tomé D., Raybould H.E. (2015) *J. Nutr.*, **145**, 672-680.
24. Vejrazkova D., Lischkova O., Vankova M., Stanicka S., Vrbikova J., Lukasova P., Vcelak J., Vacinova G., Bendlova B. (2016) *Physiol. Res.*, **66**, 283-292.

Поступила: 11. 12. 2017.  
Принята к печати: 01. 03. 2018.



THE ROLE OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN *GIPR* GENE  
IN THE CHANGES OF SECRETION IN HORMONES AND ADIPOKINES  
IN PATIENTS WITH OBESITY WITH TYPE 2 DIABETES

*D.A. Skuratovskaia<sup>1</sup>, M.A. Vulf, E.V. Kirienkova<sup>1</sup>, N.I. Mironyuk<sup>2</sup>, P.A. Zatolokin<sup>1,2</sup>, L.S. Litvinova<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Immanuel Kant Baltic Federal University,  
14 Alexandra Nevskoro str., Kaliningrad, 236038 Russia; e-mail: [larisalitvinova@yandex.ru](mailto:larisalitvinova@yandex.ru)

<sup>2</sup>Regional Clinical Hospital of the Kaliningrad Region, Kaliningrad, Russia

The relationship between the rs2302382, rs8111428 and Glu354Gln (rs1800437) polymorphisms in *GIPR* (glucosedependent insulinotropic polypeptide receptor) gene and plasma levels of mediators involved in the regulation of carbohydrate metabolism in obese patients with type 2 diabetes (before and after a test breakfast) was investigated. The contribution of polymorphic variants of rs2302382, rs8111428 in *GIPR* gene in the predisposition to type 2 diabetes in individuals belonging to the Slavic population of Russia was found. Polymorphisms rs2302382 and rs8111428 in the *GIPR* gene were characterized by the nonequilibrium cohesion. The decrease in the level of expression of the *GIPR* gene in adipose tissue of the small intestine mesentery in the carriers of the CC genotype rs2302382 and AA rs8111428 was associated with the increase in the plasma leptin level, whereas during normal expression, the plasma content of insulin, and GIP (in persons with the genotype of the polymorphism rs2302382 and AG polymorphism rs8111428), resistin and ghrelin (in individuals with the genotype of the polymorphism rs2302382) increased. We propose the stimulating effect of GIP on the secretion of resistin, leptin and ghrelin, with an increase in insulin production in obese patients with type 2 diabetes.

**Key words:** incretins, adipokines, glucosedependent insulinotropic polypeptide, hormones, gene expression, polymorphism