

## Регуляция секреции глюкагона гормонами инкретинового ряда у лиц с факторами риска сахарного диабета 2-го типа

Е.А. ШЕСТАКОВА<sup>1\*</sup>, А.В. ИЛЬИН<sup>1</sup>, к.ф.-м.н. А.Д. ДЕЕВ<sup>2</sup>, чл.-корр. РАМН М.В. ШЕСТАКОВА<sup>1,3</sup>,  
акад. РАН и РАМН И.И. ДЕДОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава РФ; <sup>2</sup>«ГНИЦ профилактической медицины» Минздрава России; <sup>3</sup>Первый МГМУ им. И.М. Сеченова

### Regulation of glucagon secretion by incretin-like hormone family in the patients at risk of developing type 2 diabetes mellitus

E.A. SHESTAKOVA<sup>1</sup>, A.V. ILYIN<sup>1</sup>, A.D. DEEV<sup>2</sup>, M.V. SHESTAKOVA<sup>1,3</sup>, I.I. DEDOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal state budgetary institution "Endocrinological Research Centre", Russian Ministry of Health; <sup>2</sup> State Research Centre of Prophylactic Medicine, Russian Ministry of Health; <sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow

Оценка секреции гормонов поджелудочной железы и гормонов инкретинового ряда в ходе перорального глюкозотолерантного теста с 75 г глюкозы проведена у 127 пациентов с факторами риска сахарного диабета 2-го типа (СД2). По результатам теста пациенты были разделены на три группы: без нарушений углеводного обмена, с высоким риском СД2 (нарушенной гликемией натощак — НГН и нарушенной толерантностью к глюкозе — НТГ) и с впервые выявленным СД2. В группе здоровых лиц отмечалось ожидаемое подавление секреции глюкагона в ходе теста, тогда как у больных с СД2 наблюдалось парадоксальное повышение уровня глюкагона в ответ на нагрузку на 30 мин. Среди пациентов с высоким риском СД2 более высокая площадь под кривой (ППК) секреции глюкагона наблюдалась у лиц с НГН, чем в группе НТГ ( $p=0,0005$ ). ППК секреции глюкагона положительно коррелировала только с исходной концентрацией глюкагоноподобного пептида 2 (ГПП-2) ( $r=0,61$ ;  $p=0,0001$ ), что свидетельствует о высоком глюкагоностимулирующем эффекте этого фактора. Глюкагонотропный эффект ГПП-2 может объяснять отсутствие подавления секреции глюкагона у больных с СД2 и состояние изолированной гипергликемии натощак.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2-го типа, глюкагон, ГПП-1, ГПП-2, ГИП.

The study included 127 patients with type 2 diabetes (T2D) risk factors, who underwent oral glucose tolerance test (75 g glucose) with pancreatic and incretin hormones estimated in fasting state, at 30 and 120 minutes after glucose load. According to the test results the population was divided into 3 groups: group with normal glucose tolerance (NGT), group with high risk of diabetes developing (impaired glucose tolerance (IGT) and impaired fasting glycemia (IFG)) and newly-diagnosed T2D. The stimulated glucagon secretion was suppressed in NGT group, whereas in T2D patients there was an increase in glucagon levels at 30 min after the glucose load. Within high risk group the area under curve (AUC) of glucagon secretion was significantly elevated in IFG patients comparing to IGT (0,52 vs 0,07 ng·ml<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>,  $p=0,0005$ ). AUC of glucagon secretion was positively related only to fasting glucagon-like peptide 2 (GLP-2) level ( $r=0,61$ ,  $p=0,0001$ ), that suggests glucagonotropic properties for GLP-2. We conclude that glucagon stimulation by GLP-2 may play a role in decreased glucagon suppression in T2D patients and IFG state development.

**Key words:** type 2 diabetes, glucagon, GLP-1, GLP-2, GIP.

Глюкагон стимулирует гликогенолиз в печени; поэтому повышенные уровни глюкагона у больных с СД2 усугубляют гипергликемию. Причина гиперглюкагонемии при СД2 не до конца ясна, однако исследования в этой области говорят об отсутствии подавления секреции глюкагона после приема глюкозы внутрь, но не после ее внутривенного введения [1]. Это позволило предположить участие интестинальных факторов, в частности гормонов инкретинового ряда, в регуляции продукции глюкагона. Среди этих гормонов выделяют глюкагоноподобные пептиды 1 и 2 (ГПП-1, ГПП-2) и глюкозозависимый инсулиотропный полипептид (ГИП) [2–4].

Цель настоящей работы — оценка влияния гормонов инкретинового ряда (ГПП-1, ГИП, ГПП-2) на секрецию глюкагона у лиц с факторами риска развития СД2.

### Материал и методы

Обследовали 127 пациентов с одним или несколькими факторами риска развития СД2, к которым относили возраст  $\geq 45$  лет, избыточную массу тела или ожирение (ИМТ  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>), семейный анамнез СД2 (родители или сибсы с СД2), нарушение гликемии натощак (НГН) или толерантности к глюкозе (НТГ) в анамнезе, гестационный СД или

**Таблица 1. Клиническая характеристика исследуемых групп больных ( $M \pm m$ )**

| Группа                 | Норма     | НТГ и/или НГН           | СД2                     | <i>p</i> |
|------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|----------|
| Число наблюдений       | 28        | 44                      | 55                      |          |
| Возраст, годы          | 52,3±2,4  | 57,9±1,9                | 60,2±1,7                | нд       |
| Пол (м/ж)              | 14/14     | 24/20                   | 28/27                   | нд       |
| ИМТ, кг/м <sup>2</sup> | 32,2±1,55 | 33,0±1,21               | 33,3±1,17               | нд       |
| ОТ/ОБ                  | 0,94±0,01 | 0,93±0,01 <sup>*3</sup> | 0,97±0,01 <sup>*2</sup> | <0,02    |

Примечание. \* — значения *p* при сравнении с указанной группой.

**Таблица 2. Показатели углеводного обмена у пациентов трех групп ( $M \pm m$ )**

| Показатель       | Норма    | Высокий риск СД2 | СД2       | <i>p</i> |
|------------------|----------|------------------|-----------|----------|
| Глюкоза, ммоль/л | 6,9±0,17 | 8,0±0,14         | 11,1±0,13 | 0,0001   |
| Инсулин, мкЕд/мл | 55,9±5,0 | 64,2±4,0         | 70,1±3,7  | <0,01    |

рождение крупного плода в анамнезе. В исследование не включались пациенты, получающие сахароснижающие препараты или находящиеся на диетотерапии.

Всем пациентам был проведен стандартный пероральный глюкозотолерантный тест (ПГТТ) с 75 г глюкозы. В ходе теста оценивали уровни глюкозы, иммунореактивного инсулина (ИРИ), глюкагона и интестинальных гормонов (ГПП-1, ГИП, ГПП-2) натощак, на 30-й и 120-й минуте. Данные, полученные на 30-й минуте, использовались для оценки пиковой секреции гормонов. Работа была одобрена этическим комитетом ФГБУ ЭНЦ. Все пациенты подписали информированное письменное согласие на участие в исследовании.

В зависимости от результатов ПГТТ пациенты были разделены на три группы: лица без нарушений углеводного обмена (норма), группа высокого риска СД2 и пациенты с впервые выявленным СД2. Группа высокого риска СД2 включала лиц с НГН и НТГ или сочетанием этих нарушений. Пациенты всех групп были сопоставимы по полу, возрасту, ИМТ (табл. 1). Пациенты с впервые выявленным СД2 имели достоверно более высокое соотношение окружности талии и бедер (ОТ/ОБ).

Пробы крови на 0, 30 и 120-й минутах ПГТТ центрифугировали и в сыворотке в тот же день определяли биохимические показатели и инсулин. Плазму замораживали при  $-30^{\circ}\text{C}$  для последующего определения глюкагона, ГПП-1, ГПП-2, ГИП. Уровень глюкозы в сыворотке определяли на биохимическом анализаторе Architect c4000 («Abbott Diagnostics», «Abbott Park, IL», США) с использованием стандартных наборов производителя. Определение уровня инсулина проводили методом усиленной хемилюминесценции на анализаторе COBAS 6000. Суммарный ГПП-1 и ГПП-2, а также панкреатический глюкагон определяли методом ELISA с использованием наборов компании «BioVendor». Суммарный ГИП определяли методом ELISA (на-

боры компании USCN). Для каждого исследуемого гормона (ГПП-1, ГПП-2, ГИП и глюкагона) рассчитывали площади под кривой (ППК). Исследования проведены в лаборатории ФГБУ ЭНЦ (зав. А.В. Ильин).

Ввод данных, их редактирование и статистический анализ осуществляли в системе SAS (Statistical Analysis System), версия 6. Использовали стандартные критерии значимости:  $\chi^2$ , *t*-тест Стьюдента (двухвыборочный и парный) и критерий Фишера (F-тест) дисперсионного анализа. Достоверными считались различия при  $p < 0,05$ . Для выявления и оценки связей между показателями применяли непараметрический корреляционный анализ по Спирмену.

## Результаты и обсуждение

Гликемия во всех точках измерения, равно как и секреция инсулина, была максимальной у больных с СД2 и минимальной у здоровых лиц (табл. 2).

Динамика секреции глюкагона представлена на рис. 1.

В группе пациентов с нормальным углеводным обменом на 30-й минуте ПГТТ наблюдалось ожидаемое повышение секреции инсулина и подавление секреции глюкагона. У пациентов с СД2 секреция глюкагона на 30-й минуте не подавлялась, а даже увеличивалась. Это наблюдение полностью согласуется с данными литературы [5] об отсутствии подавления секреции глюкагона в ответ на прием углеводов. Более того, у лиц с НГН была отмечена более высокая ППК глюкагона в ходе углеводной нагрузки, чем в группе с НТГ (рис. 2).

В норме инсулин, выделяющийся в ответ на углеводную нагрузку, подавляет продукцию глюкагона. Однако при СД2 по неясным причинам этот механизм нарушается. Недостаточное подавление секреции глюкагона при СД2 приводит к повышению продукции глюкозы печенью и, как следствие,

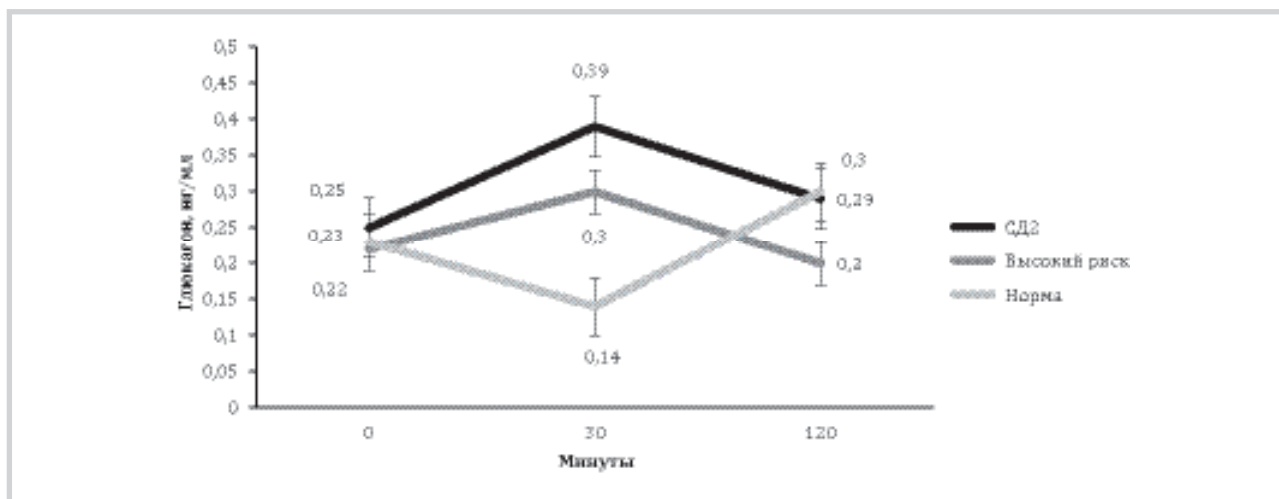


Рис. 1. Секретия глюкагона у пациентов исследуемых групп в ходе ПГТТ.

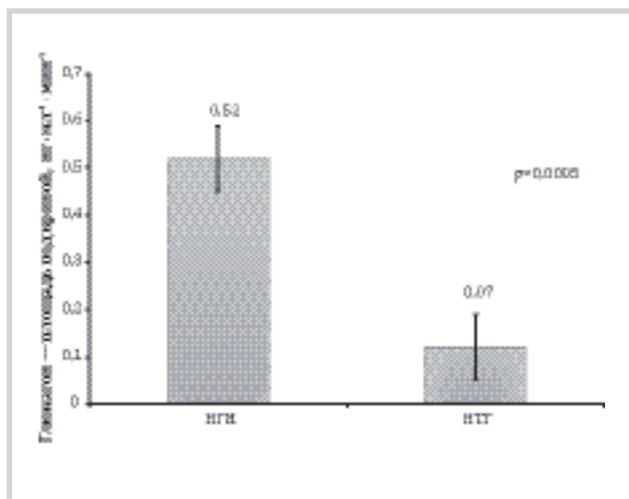


Рис. 2. Площади под кривыми секретии глюкагона в ходе ПГТТ у лиц с НДН и НДТ.

усугублению гипергликемии [6]. Во многих исследованиях [4, 7] показана способность ГПП-1 подавлять продукцию глюкагона, сохраняющаяся при СД2. Однако при СД2 секретия ГПП-1 снижена, поэтому можно было бы предположить, что именно это препятствует снижению продукции глюкагона у таких больных.

ГИП, наоборот, не влияет на уровень глюкагона в условиях гипергликемии [2], но у лиц с нормогликемией ГИП стимулирует его секрецию [8]. В исследовании М. Christensen и соавт. [9] оценивалось воздействие экзогенного ГИП в физиологических дозах у добровольцев в условиях инсулинизированной гипогликемии, нормогликемии или гипергликемии. На фоне гипергликемии ГИП стимулировал секрецию инсулина и не влиял на уровень глюкагона, тогда как в условиях нормо- и гипогликемии ГИП стимулировал секрецию глюкагона, не изменяя уровень инсулина. Авторы заключили, что

ГИП обладает двояконаправленным действием на продукцию обоих гормонов, определяющих гомеостаз глюкозы. Учитывая нарушение инсулиноотропного действия ГИП у больных СД2, глюкагонотропные свойства ГИП могут лишь усугублять гипергликемию у таких пациентов. Таким образом, дисрегуляция продукции ГИП также могла бы объяснить отсутствие адекватного подавления секреции глюкагона при СД2.

Мы не обнаружили влияния ГПП-1 и ГИП на секрецию глюкагона у пациентов всех исследуемых групп. В то же время ГПП-2 оказывал значимое стимулирующее действие на выброс глюкагона (рис. 3). Это подтверждается обнаруженной прямой корреляционной зависимостью между ППК глюкагона в ходе ПГТТ и исходными значениями ГПП-2.

Необходимо отметить, что выявленная корреляция не позволяет однозначно говорить о прямом взаимодействии двух гормонов. Тем не менее наше предположение о стимулирующем влиянии ГПП-2 на секрецию глюкагона находит свое подтверждение в литературе [10, 11], где описан прирост концентрации глюкагона в ответ на введение ГПП-2 в низких концентрациях. Правильнее было бы оценивать уровень глюкагона при совместном воздействии всех гормонов ЖКТ, как это происходит *in vivo*. В подобном исследовании А. Lund и соавт. [3] проводили инфузию ГИП, ГПП-1, ГПП-2 и комбинации всех этих гормонов пациентам с СД2. Введение ГПП-1 подавляло секрецию глюкагона, а ГИП и ГПП-2 стимулировали его секрецию. Введение всех трех гормонов в комбинации не подавляло глюкагона. Таким образом, глюкагонотропный эффект ГИП и ГПП-2 нивелировал подавляющий эффект ГПП-1.

## Заключение

Секреция глюкагона в ответ на нагрузку глюкозой различается у здоровых и больных СД2: у здоро-

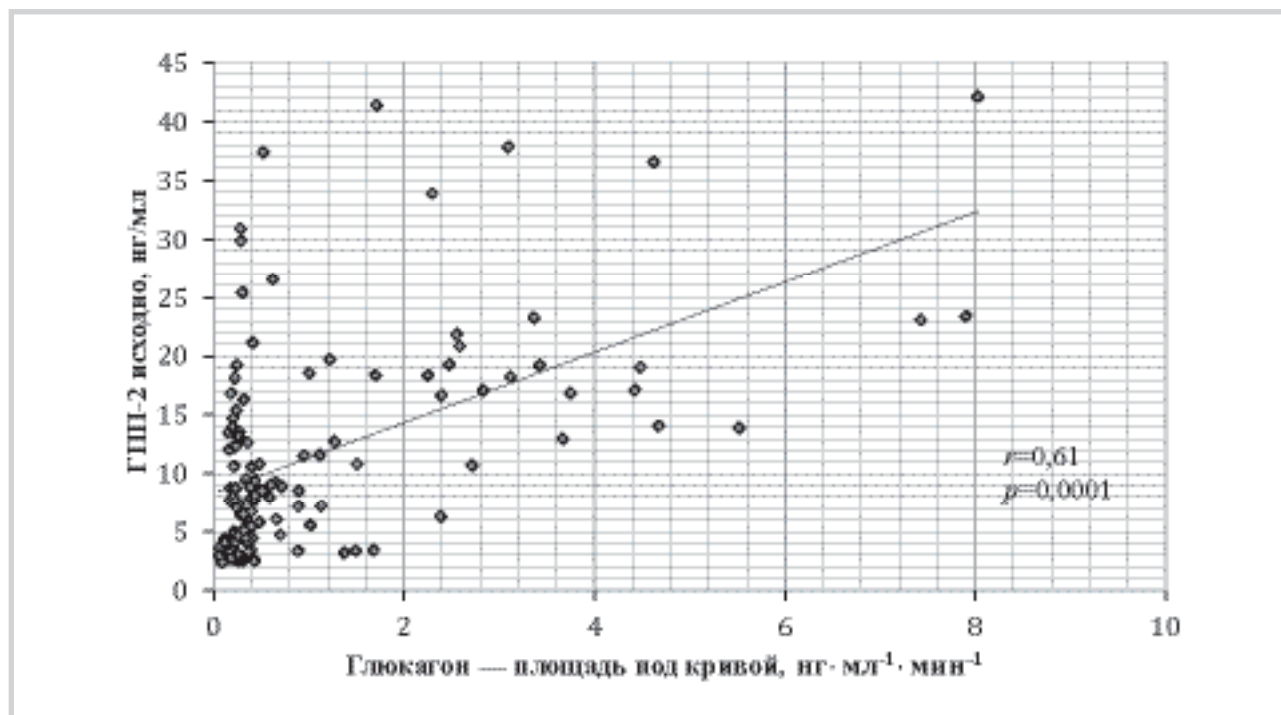


Рис. 3. Корреляция между ППК глюкагона в ходе ПГТТ и исходной концентрацией ГПП-2.

вых лиц она подавляется, при СД2 — возрастает. Среди больных с высоким риском СД2 секреция глюкагона выше при изолированной НГН, чем при НТГ, что говорит о более значимом вкладе глюкагона в формирование гипергликемии натощак, чем постприандиальной гликемии. Обнаруженное увеличение глюкагонотропного действия ГПП-2 может объяснить парадоксальное отсутствие подавления секреции глюкагона при углеводной нагрузке у больных СД2.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Knop F.K., Vilsboll T., Madsbad S., Holst J.J., Krarup T. Inappropriate suppression of glucagon during OGTT but not during isoglycaemic i.v. glucose infusion contributes to the reduced incretin effect in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 2007; 50: 797—805.
2. Vilsboll T., Krarup T., Madsbad S., Holst J.J. Defective amplification of the late phase insulin response to glucose by GIP in obese type II diabetic patients. *Diabetologia* 2002; 45: 1111—1119.
3. Lund A., Vilsboll T., Bagger J.I., Holst J.J., Knop F.K. The separate and combined impact of the intestinal hormones, GIP, GLP-1 and GLP-2, on glucagon secretion in type 2 diabetes. *Am J Phys Endocrinol Metabol* 2011; 300: E1038—E1046.
4. Hare K.J., Knop F.K., Asmar M., Madsbad S., Deacon C.F., Holst J.J., Vilsboll T. Preserved inhibitory potency of GLP-1 on glucagon secretion in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metabol* 2009; 94: 4679—4687.
5. Дедов И.И., Шестакова М.В. Инкретины: новая веха в лечении сахарного диабета 2-го типа. М: Дипак 2010.
6. Shah P., Vella A., Basu A., Basu R., Schwenk W.F., Rizza R.A. Lack of suppression of glucagon contributes to postprandial hyperglycemia in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metabol* 2000; 85: 4053—4059.
7. Holst J.J. On the physiology of GIP and GLP-1. *Horm Metabol Res* 2004; 36: 747—754.
8. Meier J.J., Gallwitz B., Siepmann N. et al. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) dose-dependently stimulates glucagon secretion in healthy human subjects at euglycaemia. *Diabetologia* 2003; 46: 798—801.
9. Christensen M., Vedtofte L., Holst J.J., Vilsboll T., Knop F.K. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide: a bifunctional glucose-dependent regulator of glucagon and insulin secretion in humans. *Diabetes* 2011; 60: 12: 3103—3109.
10. Meier J.J., Nauck M.A., Pott A., Heinze K., Goetze O., Bulut K., Schmidt W.E., Gallwitz B., Holst J.J. Glucagon-like peptide 2 stimulates glucagon secretion, enhances lipid absorption, and inhibits gastric acid secretion in humans. *Gastroenterology* 2006; 130: 44—54.
11. Sorensen L.B., Flint A., Raben A., Hartmann B., Holst J.J., Astrup A. No effect of physiological concentrations of glucagon-like peptide-2 on appetite and energy intake in normal weight subjects. *Int J Obes Relat Metabol Dis* 2003; 27: 450—456.

Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

### Участие авторов:

**Концепция и дизайн исследования** — И.И. Дедов, М.В. Шестакова, Е.А. Шестакова

**Сбор и обработка материала** — Е.А. Шестакова, А.В. Ильин

**Статистическая обработка данных** — А.Д. Деев

**Написание текста** — Е.А. Шестакова

**Редактирование** — М.В. Шестакова, И.И. Дедов