

**Патогенетическое значение ассоциированных с адипогенезом микроРНК в развитии инсулинорезистентности при алиментарно-конституциональном ожирении**

*Тофило М.А.*

ФГБОУ ВО Тверской государственный медицинский университет  
Минздрава России

**Pathogenetic significance of adipogenesis-associated microRNAs in the development of insulin resistance in alimentary-constitutional obesity**

*Tofilo M.A.*

Tver State Medical University

*Аннотация. В статье приведены результаты определения уровней miR-143 и miR-155 в крови и жировой ткани у 56 женщин, страдающих избыточной массой тела и ожирением. Выявлена статистически достоверно повышенная экспрессия miR-143 и miR-155, как в висцеральном жире, так и в сыворотке крови, у пациенток с алиментарно-конституциональным ожирением по сравнению с метаболически некомпromетированными пациентами. Изучена корреляция уровней микроРНК с антропометрическими и биохимическими показателями пациенток в сыворотке крови. Результаты проведенного исследования показали, что ассоциированные с адипогенезом микроРНК – miR-143 и miR-155, имеют патогенетическое значение в развитии инсулинорезистентности при алиментарно-конституциональном ожирении. Ключевые слова: патогенез, микроРНК, инсулинорезистентность, сахарный диабет, ожирение.*

*Summary. The article presents the results of determining the levels of miR-143 and miR-155 in blood and adipose tissue in 56 women who are overweight and obese. Statistically significant increased expression of miR-143 and miR-155, both in visceral fat and in blood serum, was detected in patients with alimentary-constitutional obesity in comparison with metabolically non-compromised patients. The correlation of microRNA levels with anthropometric and biochemical parameters of patients in blood serum was studied. The results of the study have shown that microRNAs – miR-143 and miR-155 associated with adipogenesis have pathogenetic significance in the development of insulin resistance in alimentary-constitutional obesity..*

*Keywords: pathogenesis, microRNA, insulin resistance, diabetes mellitus, obesity*

**Введение.** Ожирение считается неинфекционной эпидемией настоящего времени в связи с высоким уровнем распространенности в основном в странах с высоким уровнем экономического развития [4]. Избыточный вес и ожирение повышают риск возникновения инсулинорезистентности, сахарного диабета, развития сердечно-сосудистых и других осложнений заболевания [1].

Углеводный и липидный обмены в организме регулируется многими факторами – гормонами, адипокинами, факторами транскрипции, а также микроРНК [2]. МикроРНК (miR) – это малые некодирующие РНК, регулирующие экспрессию генов на посттранскрипционном уровне путем связывания с комплементарными участками целевой мРНК, нарушая ее последующую трансляцию [5]. Изучение изменения уровней экспрессии микроРНК при ожирении и инсулинорезистентности с оценкой их корреляции с показателями углеводного и липидного обменом и сопоставлением с возможными молекулярными мишенями (мРНК) дает возможность проследить патогенетическое значение определенных микроРНК для их возможного применения либо как лабораторных маркеров, либо как терапевтических мишеней [3].

**Цель.** Изучить уровни экспрессии микроРНК – miR-143 и miR-155 в висцеральной жировой ткани и сыворотке крови и их корреляцию с биохимическими показателями у больных ожирением и имеющих инсулинорезистентность по сравнению с метаболически некомпromетированными пациентами для определения патогенетического значения данных микроРНК в развитии инсулинорезистентности.

**Материалы и методы.** Выделение микроРНК проведено из крови и висцеральной жировой ткани, полученной при полостных операциях на брюшной полости 46 метаболически компromетированных женщин с абдоминально-конституциональным ожирением и нарушением толерантности к глюкозе (10 человек больны диабетом 2 типа и 36 имеют инсулинорезистентность) и 10 женщин без абдоминально-конституционального ожирения и нормальной чувствительностью к глюкозе, которые составили контрольную группу (метаболически некомпromетированные пациенты). Пробы висцерального жира гомогенизировали с «Qiazol Lysis Reagent» (Qiagen GmbH, Германия) с помощью гомогенизатора «Minilys» (Bertin Instruments, Франция). МикроРНК из гомогената выделяли, используя «miRNeasy Mini Kit», из сыворотки крови – «miRNeasy Serum/Plasma Kit» (Qiagen GmbH, Германия). Количество выделенной микроРНК измеряли на спектрофотометре «NanoDrop™ Lite» (Thermo Fisher Scientific, США). Реакцию обратной транскрипции и ПЦР real time проводили с использованием праймеров «TaqMan™ MicroRNA Assay», «RT Reverse Transcription Kit», «PCR Master Mix, no UNG» (Thermo Fisher Scientific, США). Для нормализации показателей экспрессии целевых микроРНК применяли RNU 6B. Для обратной транскрипции использовали «Veriti Thermal Cycler» (Thermo Fisher Scientific, США), для ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией продуктов амплификации «в режиме реального времени» – «ДТ-Лайт» (ДНК-технологии, Россия). Для нормализации полученных данных измерялась экспрессия микроРНК RNU6b, принадлежащей к генам домашнего хозяйства. Уровень экспрессии микроРНК рассчитывали по формуле  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  [6]. Показатели экспрессии у контрольной группы были приняты за единицу. Пациентам всех групп проводилось измерение антропометрических параметров (рост, вес, объем талии, объем бедер), биохимических показателей углеводного (глюкоза натощак, ОГТТ, инсулин,

гликированный гемоглобин, расчет индексов инсулинорезистентности НОМА-IR (Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance) и Caro) и липидного (холестерин и его фракции) обмена, а также С-реактивного белка. Взаимосвязь между количественными признаками оценивали путем расчета коэффициента корреляции рангов по Спирмену. Анализ количественных признаков начинали с оценки их распределения, для чего вычислялись показатели асимметрии и эксцесса вариационного ряда. Для сравнения экспрессии микроРНК в группах метаболически компрометированных пациентов по сравнению с контрольной группой использовали медиану, первый и третий квартили. Для оценки статистической значимости разности средних в двух группах применяли критерий Манна-Уитни. Различия между значениями показателей в группах считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В группе метаболически компрометированных лиц в висцеральном жире экспрессия miR-143, была в 94,0 раза [68,9; 135,6] ( $p < 0,001$ ) выше по сравнению с контрольной группой. При этом уровни экспрессии данной микроРНК среди метаболически компрометированных лиц превышали показатели контрольной группы – у больных сахарным диабетом в 62,2 раза [39,9; 73,9] ( $p < 0,001$ ) и у пациентов с инсулинорезистентностью и без сахарного диабета – в 112,0 раз [83,5; 172,9] ( $p < 0,001$ ). В крови экспрессия miR-143 у больных сахарным диабетом в 40,5 раз [37,2; 41,9] ( $p < 0,001$ ) была выше, чем в контрольной группе, а у пациентов с инсулинорезистентностью и без сахарного диабета – в 49,9 раз [39,1; 59,3] ( $p < 0,001$ ). В целом в группе метаболически компрометированных лиц уровень экспрессии miR-143 превышал показатель контрольной группы в 44,9 раза [39,1; 55,3] ( $p < 0,001$ ).

Экспрессия miR-155 в висцеральном жире была в 60,1 раз [41,0; 82,0] ( $p < 0,001$ ) выше в группе метаболически компрометированных лиц по сравнению с контрольной группой. При этом уровни экспрессии этой микроРНК среди метаболически компрометированных лиц превышали показатели контрольной группы – у больных сахарным диабетом в 120,2 раза [102,8; 138,2] ( $p < 0,001$ ) и у пациентов с инсулинорезистентностью и без сахарного диабета – в 47,1 раз [34,5; 66,6] ( $p < 0,001$ ). В крови экспрессия miR-155 у больных сахарным диабетом в 44,0 раз [34,6; 47,2] ( $p < 0,001$ ) была выше, чем в контрольной группе, а у пациентов с инсулинорезистентностью и без сахарного диабета – в 7,3 раз [6,2; 9,1] ( $p < 0,001$ ). В группе метаболически компрометированных лиц в целом уровень экспрессии miR-155 превышал показатель контрольной группы в 8,1 раза [6,4; 11,8] ( $p < 0,001$ ).

Согласно данным биоинформатики, а именно базы данных *miRBase.org*, для miR-143 одними из целевых молекулярных мишеней являются 3'UTR участки мРНК MAP2K5 и ERK5. Благодаря этому взаимодействию miR-143 ассоциирована с адипогенезом за счет последовательного подавления CREB (cAMP Response Element-Binding Protein), C/EBP $\beta$  и C/EBP $\alpha$  (CCAAT-enhancer-binding proteins alfa, beta), приводящего к снижению содержания PPAR $\gamma$  (Peroxisome Proliferator-activated Receptor gamma) [2]. PPAR $\gamma$  – ядерный транскрипционный фактор, экспрессируемый в основном жировой тканью,

активация которого способствует адипогенной дифференцировке мезенхимальных стромальных клеток, предшественников адипоцитов, а также накоплению липидов адипоцитами. Другой мишенью miR-143 является 3'UTR мРНК протеинкиназы В (Akt2), которая участвует в инсулиновом сигнальном пути, индуцируя транспорт глюкозы в инсулинозависимые ткани, за счет активирования транслокации глюкозного переносчика четвертого типа (GLUT4) из цитоплазматических везикул в наружную мембрану клеток. Связывание мРНК Akt2 увеличенным при ожирении количеством молекул miR-143 нарушает транспорт глюкозы в клетки инсулинозависимых тканей, что приводит к развитию гипергликемии, при этом наличие хронической гипергликемии – это путь к хронической гиперинсулинемии, то есть развитию инсулинорезистентности.

По данным *miRBase.org* miR-155 комплементарна 3'UTR участкам мРНК нескольких молекулярных мишеней – С/ЕВРβ, PP2A (Protein Phosphatase 2A) и SOCS1 (Suppressor of Cytokine Signaling 1), следовательно, ингибирует их при связывании. Снижение уровня С/ЕВРβ приводит к блокированию PPARγ и нарушению процессов адипогенеза, как это было указано выше. Снижение содержания белка PP2A уменьшает его блокирующее действие на сигнальный путь АМПК (AMP-activated Protein Kinase) (согласно базе данных KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)), при этом уровень АМПК повышается. В свою очередь это приводит к снижению скорости синтеза жирных кислот и холестерина за счет уменьшения активности ацетилКоА-карбоксилазы и гидроксид-метилглутарил-КоА-редуктазы соответственно, вызванной при фосфорилировании этих ферментов повышенным содержанием киназы АМПК. Пониженный уровень SOCS1 оказывает менее выраженный ингибирующий эффект на сигнальный путь JAK/STAT (Janus Kinases/Signal Transducer and Activator of Transcription). При этом уровень JAK, а затем последовательно и PI3K, АКТ повышается, способствуя увеличению содержания GLUT4 в мембранах клеток инсулинзависимых тканей (база данных KEGG), что улучшает транспорт глюкозы в них. Следовательно, можно предположить, что повышенная экспрессия miR-155 при ожирении должна иметь протективное значение – угнетать адипогенез и улучшать гомеостаз глюкозы. Однако, последнего у метаболически компрометированных больных не наблюдается, что, очевидно, связано действием других регулирующих факторов, приводящих к хронической гипергликемии – хронической гиперинсулинемии – инсулинорезистентности.

Взаимосвязь уровней miR-143 и miR-155 с нарушениями углеводного и липидного обменов подтверждается как данными биоинформатики, так и полученными нами результатами расчета ее корреляции с антропометрическими и биохимическими показателями. Так, у метаболически компрометированных пациентов наличие корреляции miR-143 в висцеральном жире выявлено с ИМТ ( $r_s = 0,37$ ;  $p < 0,01$ ), глюкозой ( $r_s = 0,43$ ;  $p < 0,002$ ), индексом инсулинорезистентности Caro ( $r_s = 0,36$ ;  $p < 0,01$ ) и С-реактивным белком ( $r_s = 0,48$ ;  $p < 0,05$ ). У пациентов этой же группы больных уровень экспрессии

miR-143 в сыворотке крови коррелировал с ИМТ ( $r_s = 0,56$ ;  $p < 0,001$ ), ОТ/ОБ ( $r_s = 0,55$ ;  $p < 0,001$ ), с лептином ( $r_s = 0,45$ ;  $p < 0,001$ ) и С-реактивным белком ( $r_s = 0,75$ ;  $p < 0,001$ ). В группе пациентов с НТГ уровень экспрессии miR-143 в жировой ткани коррелировал с концентрацией инсулина ( $r_s = 0,42$ ;  $p < 0,02$ ), индексами инсулинорезистентности НОМА-IR ( $r_s = 0,40$ ;  $p < 0,02$ ) и Саг0 ( $r_s = 0,44$ ;  $p < 0,01$ ), с адипонектином ( $r_s = -0,40$ ;  $p < 0,02$ ), ЛПВП ( $r_s = -0,37$ ;  $p < 0,05$ ), ЛПОНП ( $r_s = 0,39$ ;  $p < 0,02$ ) и ТГ ( $r_s = 0,39$ ;  $p < 0,02$ ). У пациентов этой же группы выявлены статистически достоверные корреляции экспрессии miR-143 в сыворотке крови со следующими антропометрическими и биохимическими показателями – ИМТ ( $r_s = 0,54$ ;  $p > 0,001$ ), ОТ/ОБ ( $r_s = 0,74$ ;  $p < 0,001$ ), с лептином ( $r_s = 0,41$ ;  $p < 0,02$ ), адипонектином ( $r_s = -0,46$ ;  $p < 0,005$ ), ЛПВП ( $r_s = -0,34$ ;  $p < 0,05$ ), ЛПОНП ( $r_s = 0,43$ ;  $p < 0,01$ ), ТГ ( $r_s = 0,44$ ;  $p < 0,01$ ) и СРБ ( $r_s = 0,93$ ;  $p < 0,001$ ). В группе больных СД 2 типа уровень экспрессии miR-143 коррелировал с лептином ( $r_s = 0,88$ ;  $p < 0,001$ ) только в сыворотке крови, но не в висцеральной жировой ткани.

В группе метаболически компрометированных пациентов наличие корреляции экспрессии miR-155 в висцеральном жире обнаружено с глюкозой ( $r_s = 0,51$ ;  $p < 0,001$ ), гликированным гемоглобином ( $r_s = 0,35$ ;  $p < 0,02$ ), ОГТТ ( $r_s = 0,50$ ;  $p < 0,001$ ), с лептином ( $r_s = 0,50$ ;  $p < 0,001$ ), с адипонектином ( $r_s = -0,43$ ;  $p < 0,002$ ), с общим холестерином ( $r_s = 0,38$ ;  $p < 0,01$ ) и холестерином липопротеинов – ЛПВП ( $r_s = -0,39$ ;  $p < 0,01$ ), ЛПНП ( $r_s = 0,33$ ;  $p < 0,02$ ), ЛПОНП ( $r_s = 0,50$ ;  $p < 0,001$ ), ТГ ( $r_s = 0,50$ ;  $p < 0,001$ ). У пациентов этой группы больных уровень экспрессии miR-155 в сыворотке крови коррелировал с глюкозой ( $r_s = 0,51$ ;  $p < 0,001$ ), гликированным гемоглобином ( $r_s = 0,48$ ;  $p < 0,001$ ), ОГТТ ( $r_s = 0,51$ ;  $p < 0,001$ ), индексом инсулинорезистентности НОМА ( $r_s = 0,32$ ;  $p < 0,05$ ), с адипонектином ( $r_s = -0,41$ ;  $p < 0,005$ ), ТГ ( $r_s = 0,50$ ;  $p < 0,001$ ) и С-реактивным белком ( $r_s = -0,58$ ;  $p < 0,01$ ). Экспрессия miR-155 в жировой ткани у пациентов с НТГ коррелировала с ИМТ ( $r_s = 0,57$ ;  $p < 0,001$ ), лептином ( $r_s = 0,81$ ;  $p < 0,001$ ) и СРБ ( $r_s = 0,82$ ;  $p < 0,005$ ), в крови – с ИМТ ( $r_s = 0,43$ ;  $p < 0,01$ ), лептином ( $r_s = 0,61$ ;  $p < 0,001$ ) и СРБ ( $r_s = 0,78$ ;  $p < 0,01$ ). У больных СД 2 типа уровень экспрессии miR-155 в жировой ткани статистически значимо коррелировал с ИМТ ( $r_s = 0,79$ ;  $p < 0,01$ ), лептином ( $r_s = 0,95$ ;  $p < 0,001$ ) с адипонектином ( $r_s = -0,78$ ;  $p < 0,01$ ), ЛПОНП ( $r_s = 0,88$ ;  $p < 0,001$ ), ТГ ( $r_s = 0,88$ ;  $p < 0,001$ ) и СРБ ( $r_s = 0,83$ ;  $p < 0,005$ ). При этом у данной группы больных экспрессия miR-155 в крови коррелировала с лептином ( $r_s = 0,85$ ;  $p < 0,005$ ) с адипонектином ( $r_s = -0,67$ ;  $p < 0,05$ ), ЛПОНП ( $r_s = 0,74$ ;  $p < 0,02$ ), ТГ ( $r_s = 0,74$ ;  $p < 0,02$ ) и СРБ ( $r_s = 0,64$ ;  $p < 0,05$ ).

**Выводы.** Результаты проведенного исследования показали, что ассоциированные с адипогенезом микроРНК – miR-143 и miR-155, имеют патогенетическое значение в развитии инсулинорезистентности при алиментарно-конституциональном ожирении.

**Список литературы:**

1. Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 1032 с.
2. Егоров А.Д., Пеньков Д.Н., Ткачук В.А. Молекулярные и клеточные механизмы адипогенеза // Сахарный диабет. 2015. 18(2). С. 12-19.
3. Тофило М.А., Егорова Е.Н. Особенности экспрессии микроРНК-143 и микроРНК-155 у больных с ожирением и инсулинорезистентностью // Вестник «Биомедицина и Социология». 2019. № 3. С. 7-10.
4. Global Report on Diabetes. World Health Organization, 2016. 88 с.
5. Deiluiis J. A. MicroRNAs as regulators of metabolic disease: pathophysiologic significance and emerging role as biomarkers and therapeutics // Int J Obes (Lond). 2016. 40(1). P. 88–101.
6. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>[Delta Delta C(T)] Method // Methods. 2001. 25. P. 402–408.