

Новости диабетологии

Обзор подготовлен О.К. Викуловой

По материалам 43-го конгресса Европейской Ассоциации по изучению диабета (EASD), Амстердам, 18-21 сентября 2007 г. и специального выпуска *Diabetologia*, № 50, сентябрь 2007 г.

Обратное развитие тубуло-интерстициального фиброза после трансплантации поджелудочной железы: вопросов больше чем ответов

По материалам доклада Fioretto P, Italy u Kidney International online publication 22 Feb 2006.

Развитие интерстициального фиброза, характеризующего различные гломерулярные заболевания почек, включая диабетическую нефропатию, является основной причиной прогрессивного снижения фильтрационной функции. Морфологическим эквивалентом этого процесса является увеличение объема и расширение (экспансия) интерстициального межклеточного матрикса, которое в большинстве случаев сочетается с поражением тубулярного аппарата почек – канальцевой атрофией, поэтому для характеристики дегенеративных процессов в почках чаще всего применяется термин тубуло-интерстициальный фиброз. Склеротические поражения тканей принято считать необратимыми, поэтому представленные авторами данные о возможности обратного развития тубуло-интерстициального фиброза (ТИФ) через 10 лет после трансплантации поджелудочной железы по данным пункционной биопсии прозвучали по крайней мере сенсационно.

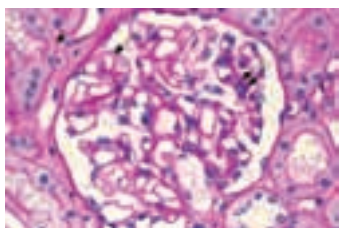


Рис. 1. Почечный клубочек в норме: просвет капилляров свободен, толщина стенки капилляров (длинная стрелка) одинакова с толщиной тубулярной базальной мембраны (короткая стрелка), мезангиальный матрикс расположен в центральной части (2 стрелки).

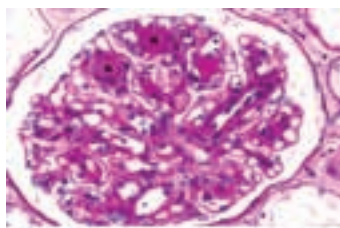


Рис. 2. Диффузный и нодулярный гломерулосклероз (экспансия мезангиального матрикса).

Материалы и методы. В исследование было включено 8 пациентов с СД 1, у которых в течение 10 лет после

трансплантации поджелудочной железы (ТПЖ) без инсулинотерапии сохранялась нормогликемия. Обязательным условием было наличие данных трех биопсий почки – до трансплантации, через 5 и 10 лет. Для оценки выраженности фиброза рассчитывали относительный объем интерстиция – соотношение фракции кортикального слоя, занятой интерстициальной тканью к общему объему кортикального слоя [$V_v(\text{инт/корт})$], относительный объем атрофичных канальцев к их общему объему [$V_v(\text{АК/ОК})$], % соотношение склерозированных клубочков и индекс гиалиноза артериол. При электронной микроскопии определяли относительный объем каждого из компонентов интерстициального матрикса: клеток, коллагена и капилляров по отношению к общему объему интерстиция и всего кортикального слоя: [$V_v(\text{клет/инт})$, $V_v(\text{кол/инт})$, $V_v(\text{кап/инт})$ и $V_v(\text{клет/корт})$, $V_v(\text{кол/корт})$, $V_v(\text{кап/корт})$].

Результаты исследования.

Клиническая характеристика пациентов. Средний возраст пациентов (2М/6Ж) к моменту трансплантации составил 33 ± 3 года, продолжительность СД 22 ± 2 года. Уровень *HbA1c* через 5 и 10 лет после ТПЖ – 5,3 и 5,5%, соответственно. Клиренс креатинина до трансплантации составил 108 ± 20 мл/мин/1,73 м², через 1 год снизился до 65 ± 12 и достоверно не изменялся через 5 и 10 лет после ТПЖ: 74 ± 16 и 74 ± 14 мл/мин/1,73 м². Экскреция альбумина до ТПЖ составляла $103(7-1276)$ мг/сут)) и достоверно не изменялась через 5 ($30(2-155)$ мг/сут)) и 10 лет ($20(6-176)$ мг/сут)). Статистически достоверных различий по среднему уровню АД не было на протяжении всего периода исследования: 88 ± 5 , 92 ± 8 , 97 ± 12 мм рт. ст. (до ТПЖ, через 5 и 10 лет, соответственно), однако количество пациентов, получавших антигипертензивную терапию увеличилось с 2 до 5 через 5 и 10 лет после ТПЖ. Пациенты не получали иАПФ и гиполипидемические препараты.

Все пациенты находились на иммуносупрессивной терапии, в том числе циклоспорином. Доза препарата была достоверно снижена в течение исследования с 8,5 мг/кг/сут в первый год лечения до 5,0 и 3,8 мг/кг/сут через 5 и 10 лет, соответственно. Данные биопсии: Увеличение объема интерстиция $V_v(\text{инт/корт})$ обнаруживалось у всех пациентов до проведения ТПЖ. Через 5 лет после трансплантации объем интерстиция увеличивался по сравнению с исходным уровнем: $V_v(\text{инт/корт}) = 0,31 \pm 0,07$ против $0,15 \pm 0,02$, $p < 0,01$, и только через 10 лет после трансплантации отмечалось уменьшение этого показателя: $V_v(\text{инт/корт}) = 0,23 \pm 0,03$, $p < 0,02$ против 5 лет. Аналогичные изменения

происходили в канальцах – относительный объем атрофичных канальцев Vv(AK/OK) возрастал через 5 лет после ТПЖ и снижался между 5-ю и 10-ю годами после трансплантации. Достоверных различий по количеству склерозированных клубочков ($29 \pm 20\%$ и $35 \pm 17\%$) и индексу гиалиноза артериол (1,3 и 1,34) между 5-ю и 10-ю годами после ТПЖ выявлено не было.

Комментарий

Авторы объясняют уменьшение выраженности тубуло-интерстициального фиброза «исчезновением» интерстициальной ткани и атрофичных канальцев, подтверждением чему, на их взгляд, является уменьшение содержания коллагена и клеточных компонентов интерстиция по отношению к кортикальному слою Vv(кол/корт) и Vv(клет/корт), полученные с крайне пограничной статистической значимостью (0,049 и 0,046, соответственно). Как наиболее вероятную причину уменьшения фиброза авторы предполагают преобладание процессов резорбции (удаления) интерстициальной ткани над образованием новых участков склероза. Ими также учитывается возможное влияние длительного периода нормогликемии, а также уменьшения дозы циклоспорина. Известно, что этот препарат может стимулировать склеротические процессы в почках. Эта причина, на наш взгляд, кажется весьма вероятной. Действительно, нормальные показатели углеводного обмена регистрировались в течение всего периода после трансплантации. Однако через 5 лет, несмотря на нормогликемию, объем интерстиция увеличивался по сравнению с исходным уровнем, и только через 10 лет после трансплантации отмечалось уменьшение этого показателя. Единственным условием, которое достоверно изменялось между 5-ю и 10-ю годами, было значимое снижение дозы циклоспорина – более чем в 2 раза по сравнению с начальной дозой терапии.

С другой стороны, лабораторные показатели функции почек, и до и после трансплантации, были нарушены крайне незначительно и оставались стабильными в течение всего периода наблюдения. Таким образом, у пациентов не было клинических проявлений выраженной нефропатии. Это подразумевает умеренные диффузные морфологические нарушения, поскольку классический узелковый гломерулосклероз развивается на терминальных стадиях нефропатии. У всех пациентов была сохранена фильтрационная функция почек, что предполагает достаточное количество несклерозированных функционально активных нефронов. Насколько можно быть уверенным, что пунктировались именно склерозированные участки почки, а не здоровая ткань?

Настоящее исследование представляет несомненный интерес, однако утверждение о возможности реверсии интерстициального фиброза кажется нам несколько преждевременным и требует дальнейшего изучения и подтверждения результатов на большей когорте пациентов.

Введение глюкагоноподобного пептида-1 (ГПП-1) мышам линии NOD с преддиабетом может замедлить развитие сахарного диабета 1 типа

Zhang J., Tokui Y., Yamagata K., Kozawa J. et al. *Diabetologia*, 2007; 50: 1900–1909.

Глюкагоноподобный пептид-1 (ГПП-1) – инсулинотропный пептид, который секретируется L-клетками желудочно-кишечного тракта в ответ на прием пищи, богатой углеводами. Помимо глюкозо-зависимой стимуляции секреции инсулина β -клетками, ГПП-1 обладает целым рядом дополнительных эффектов – ингибирует секрецию глюкагона, замедляет эвакуацию пищи из желудка, подавляет аппетит и потребление пищи, что сделало применение аналогов этого вещества одним из наиболее перспективных направлений в терапии сахарного диабета 2 типа.

Целью настоящего исследования было изучить влияние терапии ГПП-1 в течение преддиабетического периода на развитие аутоиммунного диабета 1 типа у мышей линии NOD (non-obese diabetic mouse). Как и у человека, преддиабетическая фаза у этих мышей характеризуется развитием инсулита без гипергликемии.

Материалы и методы: ГПП-1 или 10% салин (плацебо) вводились мышам в течение 4 нед и в отдельной группе – в течение 8 нед. Уровень глюкозы крови и вес мониторовались на протяжении периода лечения и после его окончания. До и после лечения проводили интраперитонеальный глюкозо-толерантный тест (ИПГТТ) и оценку выраженности инсулита по %-ному соотношению моноклеарной инфильтрации островков. Кроме того, исследовали процессы пролиферации и неогенеза β -клеток, внутриклеточную локализацию и транслокацию транскрипционного фактора FOXO1 и площадь инсулин-позитивных β -клеток до и после лечения, а также выраженность апоптоза. Пролиферацию оценивали посредством соотношения BrdU-позитивных ядер β -клеток (BrdU L.I.), BrdU – это вещество, которое встраивается во вновь синтезируемую ДНК реплицирующих клеток; неогенез – путем подсчета вновь образованных β -клеток и инсулин-позитивных островково-подобных кластеров клеток (ICCs) в протоках; апоптоз – количеством TUNEL-позитивных инсулинсодержащих клеток до и после лечения.

Результаты. Показатели глюкозы крови у мышей в группе ГПП-1 стали достоверно ниже по сравнению с контрольной через 2 нед терапии. Сахароснижающий эффект сохранялся через 1, 2, 3 и 5 нед после окончания лечения: 4,7 и 6,1, 4,8 и 6,0, 4,9 и 7,6, 5,9 и 8,7 ммоль/л, соответственно. Достоверных различий массы тела животных между группами не было. Таким образом, улучшение показателей углеводного обмена не было вызвано снижением массы тела. По данным ИПГТТ показатели глюкозы крови были достоверно ниже в группе ГПП-1 во всех точках 0–30–60–120 мин, а уровень инсулина плазмы достоверно выше на 30-й и 120-й минуте. В груп-

пе ГПП-1 отмечалось увеличение площади β -клеток наряду с увеличением соотношения BrdU L.I. и количества новообразованных β -клеток и ICCs протоков. Все различия по сравнению с контрольной группой были статистически значимы. В группе салина до и после лечения фактор транскрипции FOXO1 определялся преимущественно в ядрах инсулин-позитивных клеток, в то время как после введения ГПП-1 наблюдалась транслокация FOXO1 в цитоплазму, что параллельно с увеличением площади β -клеток отражает повышение активности процессов пролиферации на фоне терапии. Количество TUNEL-позитивных инсулинсодержащих клеток было, напротив, достоверно выше в группе, получавшей салин (0,24 против 0,11%, $p < 0,01$). Таким образом, терапия ГПП-1 снижала выраженность апоптоза на 54,2%. Проявления инсулита были достоверно меньше в группе ГПП-1 через 4 нед терапии, однако через 5 нед после окончания лечения различия между группами нивелировались.

Развитие диабета регистрировали при появлении глюкозурии, подтвержденной результатами глюкозы крови. В группе салина заболеваемость диабетом регистрировали с 3-й нед после окончания терапии и к 8-й нед этот показатель составил 50% случаев, в то время как после терапии ГПП-1 отмечались более поздний дебют СД и значительное снижение заболеваемости – через 7 нед и 20%, соответственно. Однако кумулятивная частота развития СД по окончании периода наблюдения (18 нед после окончания терапии) между группами не различалась. Тем не менее, при увеличении длительности терапии до 8 нед в группе ГПП-1 диабет не развивался через 5 нед после окончания лечения по сравнению с 60% случаев СД в группе плацебо.

Заключение: в экспериментальных моделях на животных с преддиабетом терапия ГПП-1 не только улучшает показатели инсулиновой секреции посредством повышения пролиферации и неогенеза β -клеток и подавления процессов апоптоза, но также может по крайней мере замедлить, а в отдельных случаях и предупредить развитие сахарного диабета. Нельзя прямо экстраполировать полученные результаты на человека. Тем не менее развитие этого направления исследований представляется крайне интересным и перспективным для коррекции СД 1 у человека.

Трансгенная терапия при помощи лентивирусного вектора вызывает обратное развитие стрептозотоцин-индуцированного диабета у крыс
Ren B., O'Brien B.A., Swan M.A., Koina M.E. et al. Diabetologia, 2007; 50:1910–1920.

Сахарный диабет 1 типа развивается вследствие аутоиммунной деструкции β -клеток и развития абсолютной недостаточности инсулина. Экзогенное введение рекомбинантного инсулина человека не всегда позволяет достичь нормогликемии.

Трансгенная терапия, направленная на создание суррогатных β -клеток, способных синтезировать и секретировать инсулин, является одним из перспективных направлений достижения физиологической коррекции глюкозы крови. Непосредственная трансдукция в клетки печени ряда генов факторов транскрипции β -клеток, таких как ген панкреатического и дуоденального фактора 1 (*Pdx1*), гена нейрогенной дифференцировки 1 (*Neurod1*), вызывает «печеночно-панкреатическую» трансдифференцировку и обратное развитие проявлений диабета. Однако конверсия значительных участков печени в «истинную» панкреатическую ткань повышает риск аутоиммунной агрессии и развития гепатита, вследствие возможности экзокринной трансдифференцировки клеток под действием *Pdx1*. Кроме того, *in vivo* эффективность трансдукции генов остается крайне низкой.

Большинство ранее проведенных исследований в этой области использовали для трансдукции генов в печень так называемые аденовирусные векторы. При этом методе вводимый ген остается эпизомальным, что обеспечивает лишь краткосрочный период его экспрессии, а также часто наблюдаются аутоиммунные реакции.

Материалы и методы. В настоящем исследовании был использован лентивирусный вектор (LV). LV содержит гибрид мышинного вируса иммунодефицита человека (HIV/MSCV), может стабильно интегрировать в геном гепатоцитов, обеспечивая длительную экспрессию гена инсулина. Лентивектор кодирует фурин-расщепляемый инсулин (furin-cleavable insulin (INS-FUR)), который делает возможным образование инсулина из проинсулина в клетках печени. Крысам со стрептозотоцин-индуцированным диабетом вводили «пустой» вектор (HMD) или HMD/INS-FUR вектор.

Результаты исследования. Введение HMD/INS-FUR вектора крысам со стрептозотоцин-индуцированным диабетом вызвало нормализацию уровня глюкозы крови в течение 500 дней, показатели глюкозы крови не отличались от контрольной группы без диабета. Через 2 мес после введения вектора оценивалась продукция панкреатических гормонов: в случае HMD/INS-FUR вектора значительное количество клеток печени стали инсулин-позитивными, обнаруживались также глюкагон- и соматостатин-позитивные клетки, что отражает процессы частичной панкреатической трансдифференцировки печени на фоне терапии. При иммуноэлектронной микроскопии после введения HMD/INS-FUR вектора в инсулин-позитивных клетках обнаруживались цитоплазматические секреторные гранулы, картина инсулинпродуцирующих клеток печени не отличалась от β -клеток поджелудочной железы контрольной группы.

После введения «пустого» вектора гипергликемия сохранялась, продукция панкреатических гормонов и инсулин-содержащие гранулы в клетках печени не определялись.

После введения HMD/INS-FUR вектора отмечалось *восстановление нормальной толерантности к глюкозе после внутривенной инфузии*. Показатели теста не отличались от контрольной группы без диабета. При этом уровни с-пептида и инсулина человека у животных, леченных HMD/INS-FUR, были сравнимы с показателями крысиных с-пептида и инсулина сыворотки в контрольной группе. Трансдукция HMD/INS-FUR вектора в клетки печени индуцировала также экспрессию генов ряда панкреатических факторов транскрипции (*Pdx1*, *Neurod1*, *Neurog3*), однако уровень экспрессии через 500 дней после введения вектора был ниже, чем в клетках нормальной поджелудочной железы.

В течение всего периода исследования экзокринной трансдифференцировки клеток выявлено не было, функциональные показатели печени оставались в норме.

Заключение: в настоящей работе впервые представлены данные обратного развития аутоиммунного сахарного диабета в течение длительного периода на модели животных. Дальнейшие разработки в этой области открывают новые возможности применения трансгенной терапии для лечения сахарного диабета 1 типа у человека.

Предупреждение развития диабетической ретинопатии у мышей с STZ-диабетом и дефицитом NO-синтетазы (iNOS)

Zheng L., Du Y., Miller C., Gubitosi-Klug R.A. et al. *Diabetologia*, 2007; 50 : 1987–1996.

Оксид азота (NO) или эндотелиальный фактор релаксации образуется из L-аргинина под действием фермента NO-синтетазы. Помимо мощного сосудорасширяющего эффекта, NO подавляет пролиферацию гладкомышечных клеток, блокирует агрегацию тромбоцитов и макрофагов, экспрессию молекул адгезии и продукцию эндотелина, т. е. оказывает целый ряд системных вазопротекторных эффектов. С другой стороны, при взаимодействии NO с супероксидным анионом образуется пероксинитрит – фактор сосудистой проницаемости и повреждения эндотелиальной стенки. Кроме того, повышение продукции NO в клетках эндотелия посредством активации циклооксигеназы-2 и повышения синтеза простагландинов оказывает прямой цитотоксический эффект.

Существует три изоформы NO-синтетазы: эндотелиальная (eNOS), нейрональная (nNOS) и индуцибельная (iNOS). Предполагается, что повышение активности iNOS в тканях сетчатки при диабете способствует повреждению микрососудов, что подтверждается эффективностью применения аминугуанидина – селективного ингибитора iNOS у животных с диабетической ретинопатией.

Материалы и методы: с целью изучения роли iNOS в патогенезе диабетической ретинопатии,

сахарный диабет индуцировали стрептозотоцином у мышей с дефицитом фермента iNOS (iNOS^{-/-}) и у обычных мышей линии WT. Через 2 мес после индукции диабета у животных оценивали клинические показатели, продукцию NO, супероксида, провоспалительного простагландина E2 (ПГЕ2), PAR-модифицированных ретинальных протеинов – показателя, отражающего дегенеративные процессы в микрососудах сетчатки, выраженность лейкостаза – элемента эндотелиальной дисфункции и ряд морфологических эквивалентов диабетической ретинопатии – количество капилляров, лишенных клеточных ядер и перicyt-тов и толщину сетчатки.

Результаты исследования: Несмотря на отсутствие различий между группами по клиническим параметрам углеводного обмена – уровню глюкозы и HbA1c, в группе мышей WT отмечались более высокие показатели продукции NO, супероксидного аниона и других маркеров воспаления и дегенерации сетчатки: ПГЕ2, PAR-модифицированных ретинальных протеинов, лейкостаза. Все различия с группой мышей iNOS^{-/-}, кроме уровня PAR-модифицированных ретинальных протеинов, носили статистически достоверный характер.

Количество капилляров, лишенных клеточных ядер и перicyt-тов и толщина сетчатки были также достоверно выше в группе мышей WT, в то время как у мышей линии iNOS^{-/-} дегенеративные изменения сетчатки были выражены в минимальной степени или полностью отсутствовали.

Заключение: результаты этого исследования, показавшие, что создание дефицита фермента iNOS может предупредить развитие начальных проявлений диабетической ретинопатии в эксперименте, еще раз подтверждают ведущую роль воспаления в генезе этого осложнения и определяют новые направления развития методов терапевтического воздействия.

Терапия аторвастатином предупреждает развитие дисфункции левого желудочка в эксперименте на модели диабетической кардиопатии у крыс с STZ-диабетом

Van Linthout S., Riad A., Dhayat N., Spillmann F. et al. *Diabetologia*, 2007; 50: 1977–1986.

Сахарный диабет является независимым фактором развития дисфункции левого желудочка, ассоциированной с развитием диабетической кардиопатии. В генезе этого осложнения предполагаются различные механизмы, в том числе индуцированные гипергликемией дисфункция эндотелия и оксидативный стресс, ведущие к развитию интерстициального воспаления и миокардиального фиброза. Показано, что ингибиторы ГМГ коэнзим А редуктазы или статины, помимо холестеринснижающего действия, проявляют так называемые плеiotропные холестерин-независи-

мые эффекты, связанные с подавлением факторов воспаления и цитокинов.

Целью настоящего исследования было изучить холестеринезависимый эффект терапии аторвастатином на дисфункцию левого желудочка на модели диабетической кардиопатии, ассоциированной с повышенным уровнем липидов крови.

Материалы и методы. Терапию аторвастатином в дозе, не влияющей на уровень холестерина, в течение 6 нед проводили у крыс со стрептозотоцин-индуцированным диабетом (группа STZ+A). Аналогичная терапия проводилась в группе без диабета (SD+A) для исследования базальных параметров и верификации возможных побочных эффектов. Животные без диабета (SD) и с диабетом (STZ), не получавшие терапии, составили две группы контроля. До и после лечения исследовали ряд маркеров воспаления, эндотелиальной дисфункции и кардиального фиброза и показатели функции левого желудочка.

Результаты исследования. В группе STZ+A отмечалось достоверное снижение уровня молекул адгезии ICAM1 и VCAM1 (в 16 и 36 раз, соответственно), подтверждаемое снижением экспрессии мРНК, подавлялась продукция цитокинов TNF-1 α и IL-1 β (в 3,8 и 1,6 раза) и инфильтрация макрофагами (в 2,8 раз), выраженность лимфоцитарной инфильтрации на фоне терапии аторвастатином полностью соответствовала базальному уровню, наблюдаемому в контрольной группе животных без диабета. В группе STZ, не получавшей препарат, все эти показатели были достоверно выше. Кроме того, в группе терапии отмечалось достоверное снижение активности митоген-активируемой протеинкиназы (МАПК) и уровня пероксида малондиальдегида – маркера оксидативного стресса, наряду с достоверным повышением активности эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), уровень которой соответствовал нормальным показателям продукции фермента у животных без диабета.

Содержание коллагена I и III типа, влияющих на сократительную функцию миокарда, на фоне терапии статином снижалось в 9,6 и 2,9 раза.

В группе STZ без лечения отмечалось достоверное ухудшение исследуемых показателей функции левого желудочка (dP/dt max и dP/dt min), в то время как на фоне терапии данные нарушения полностью нивелировались – при исследовании функции миокарда в группе аторвастатина не было выявлено достоверных различий по сравнению с группой здорового контроля.

Заключение: результаты настоящего исследования показали, что терапия аторвастатином, вне зависимости от холестеринснижающего действия препарата, уменьшает выраженность миокардиального воспаления и фиброза, вызывая улучшение функции миокарда. Однако данные, полученные на модели STZ-диабета, несомненно, требуют подтверждения в клинических исследованиях у больных СД 1 и 2 типа.

Субклеточная локализация рецептора сульфанилмочевины (SUR1) у человека и животных
Guiot Y., Stevens M., Marhfour I., Stienet P. et al. Diabetologia, 2007; 50: 1889–1899.

Рецептор сульфанилмочевины (SUR1) является регуляторной субъединицей АТФ-чувствительных К каналов (K_{атр}), которые играют ключевую роль в процессе секреции инсулина. Посредством соединения препаратов сульфанилмочевины (СМ) с SUR1 осуществляется их инсулиноотропное действие.

В ранних работах по изучению локализации SUR1 было установлено, что рецептор расположен в плазматической мембране β -клетки. Однако данные последних исследований, полученные с использованием техники меченого флуоресцентным веществом глибенкламида (g-BODIPY-FL), указывают на возможность взаимодействия препаратов СМ с неким внутриклеточным протеином, отличным от SUR1, обладающим в 10 раз большей аффинностью. Этот протеин был выделен из гранул панкреатических β -клеток у мышей и назван гранулярным SUR (gSUR).

Целью настоящего исследования было установить клеточную и субклеточную локализацию SUR1 у человека и животных (крыс и мышей) при помощи высокоспецифичных анти-SUR1-антител.

Результаты исследования

С наибольшей интенсивностью SUR1 определялся в панкреатических островках и, в меньшей степени, в нервных волокнах и сплетениях поджелудочной железы, в то время как ткани, содержащие SUR2 изоформу рецептора – кардиомиоциты (SUR2A) и гладкомышечные клетки сосудов (SUR2B), были SUR1-иммунонегативны аналогично тканям, полученным от SUR-/животных с дефицитом SUR1, что подтверждает отсутствие перекрестного взаимодействия различных изоформ рецептора сульфанилмочевины.

Как у человека, так и у животных SUR1 обнаруживался во всех эндокринных клетках панкреатических островков с различной интенсивностью: у человека и крыс – преимущественно в β -клетках, у мышей различий между α -, β - и δ -клетками не было. В β -клетках SUR1 присутствовал не только в цитоплазматической мембране, но преимущественно определялся в цитоплазме с различной интенсивностью и часто концентрировался в одном пуле β -клеток. Ядерная мембрана также обнаруживала присутствие SUR1.

Методом электронной микроскопии было выявлено, что SUR1 локализуется в инсулин-, глюкагон- и соматостатинсодержащих гранулах. Дегрануляция β -клеток посредством стимуляции секреции инсулина глибенкламидом *in vivo* вызывала одинаковое снижение интенсивности инсулина и SUR1 – около 45%, при этом интенсивность SUR1 в α - и δ -клетках не изменялась.

Чтобы оценить возможность детекции СМ-связывающих субстанций, отличных от SUR1 (gSUR) при помощи флуоресцентных методов, образцы островков нормальных SUR1+/+ и SUR1-/- животных инкубировались с меченым глибенкламидом g-BODIPY-FL и только флуоресцентным веществом BODIPY-FL. В пробах SUR1+/+ образцов g-BODIPY-FL локализовался в цитоплазматических структурах, по форме и размерам идентичным секреторным гранулам, при увеличении времени инкубации интенсивность сигнала возрастала и распространялась по всей цитоплазме. Пробы SUR1-/- с дефицитом SUR1 при взаимодействии с g-BODIPY-FL и BODIPY-FL давали одинаково слабые точечные сигналы вне зависимости от времени инкубации, которые были сравнимы по интенсивности с контрольной пробой (только BODIPY-FL) у SUR1+/+ животных. Таким образом, *в отсутствие SUR1-инных СМ-связывающих субстанций обнаружено не было.*

Заключение: исследование продемонстрировало, что рецептор сульфанилмочевины SUR1 обнаруживается во всех эндокринных клетках панкреатических островков и локализуется не только в плазматической мембране, как полагалось ранее, но преимущественно в секреторных гранулах, где его функцию предстоит установить. Использование флуоресцентных методов не позволяет установить других СМ-связывающих субстанций, кроме SUR1.

Роль гена фактора транскрипции 7 (TCF7L2) в нарушении инсулинсекреторной функции β -клеток *Тезисы докладов 43-го конгресса EASD, N 0174, с. S77.*

Сахарный диабет 2 типа представляет собой крайне гетерогенное заболевание, при котором наблюдаются

различные фенотипы патологии, от пациентов с ожирением и различной степенью инсулинорезистентности до преобладающего нарушения секреции инсулина, что осложняет исследование генетической предрасположенности. Тем не менее ген, кодирующий фактор транскрипции 7 (TCF7L2), показал значимую ассоциацию с повышением риска развития СД 2 типа в различных популяциях. Механизм этого действия не установлен. Предположительно, ген TCF7L2 может быть вовлечен в нарушение секреции инсулина.

Целью настоящего исследования, проведенного на изолированных островках поджелудочной железы больных СД 2 типа и здорового контроля, было изучить влияния гена TCF7L2 на продукцию панкреатических гормонов.

Результаты: в островках больных СД 2 типа определялся достоверно более высокий уровень мРНК гена TCF7L2, в 5 раз превышающий уровень экспрессии гена в островках здорового контроля, который положительно коррелировал с уровнем инсулина ($r=0,76$, $p<0,001$). Парадоксально, что уровень мРНК гена инсулина, экспрессия которого была достоверно ниже по сравнению с пациентами без диабета, обнаруживал достоверную отрицательную корреляцию с глюкозостимулированной секрецией инсулина. Трансдукция гена TCF7L2 в островки пациентов без диабета вызывала выраженную гиперэкспрессию гена ($+121\pm 52\%$) и достоверное снижение глюкозо-опосредованной секреции инсулина в этих островках. Влияния гена TCF7L2 на продукцию глюкагона выявлено не было.

Заключение. Результаты исследования подтверждают гипотезу об участии гена TCF7L2 в нарушении инсулиновой секреции у больных СД 2 типа.