

© Г. А. МЕЛЬНИЧЕНКО, В. В. ФАДЕЕВ, 1997

УДК 616.153.455-008.64-02:616.379-008.61-092:612.017.1(048.8)

Г. А. Мельниченко, В. В. Фадеев

## АУТОИММУННЫЙ ИНСУЛИНОВЫЙ СИНДРОМ КАК ПРИЧИНА ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

Кафедра эндокринологии (зав. — акад. РАМН И. И. Дедов)  
ММА им. И. М. Сеченова

Аутоиммунный инсулиновый синдром (АИС) — клинический синдром, характеризующийся сочетанием рецидивирующих гипогликемических состояний различной степени тяжести с выраженной гиперинсулинемией и высоким титром аутоантител к инсулину при отсутствии в анамнезе экзогенного введения инсулина [7, 21, 26, 46].

Появление антител к экзогенно вводимому инсулину при лечении больных сахарным диабетом и его клиническое значение известно уже десятки лет. Впервые иммуногенность инсулина была показана в 1956 г. S. Berson, который обнаружил специфические неприципитирующие антитела у больного сахарным диабетом, получавшего инсулин [4]. Y. Hirata в 1970 г. впервые сообщил о пациенте с рецидивирующими гипогликемическими состояниями, обусловленными спонтанным образованием антител к эндогенному инсулину [17]. Сначала существование АИС (болезни Хирата) вызывало большие сомнения, однако описание новых случаев, а также результаты исследований, в первую очередь рабочей группы Хирата, подтвердили самостоятельность этого аутоиммунного заболевания [7, 18, 32, 47].

Как указывалось, клинически АИС характеризуется рецидивирующими приступами гипогликемий. Гипогликемия может быть как голодовой, связанной с голоданием (спонтанной, тошачковой) [3, 13, 26, 35, 46], так и постприандиальной (реактивной) [2, 7, 13, 26, 43]. Типичным считается именно реактивный характер гипогликемии — через 3–5 часов после приема пищи (особенно пищи, богатой углеводами). Кроме того, развитие такой гипогликемии в подавляющем большинстве случаев удается объективизировать с помощью орального глюкозотолерантного теста (ОГТТ). ОГТТ при АИС, как правило, выявляет нарушенную толерантность к глюкозе (диабетический характер кривой) с выраженной реактивной гипогликемией через 3–5 ч [2, 3, 7, 10, 13, 26, 43]. Другими словами, на протяжении примерно 2 ч динамика гликемии при ОГТТ соответствует таковой при сахарном диабете (постприандиальная гипергликемия), а через 3–5 ч развивается реактивная гипогликемия (см. рисунок).

В то же время описаны пациенты с приступами типичной голодовой гипогликемии [3, 13, 26, 35, 46]. В обеих ситуациях симптоматика представлена тем или иным сочетанием адренергических и (или) нейроглюкопенических симптомов. В работе [13] показано, что из 12 пациентов с АИС гипогликемия носила только голодовой характер у 4, только постприандиальный у 3, тогда как сочетание обоих типов наблюдалось у 5 больных. Не исключено, что определенную путаницу вносит

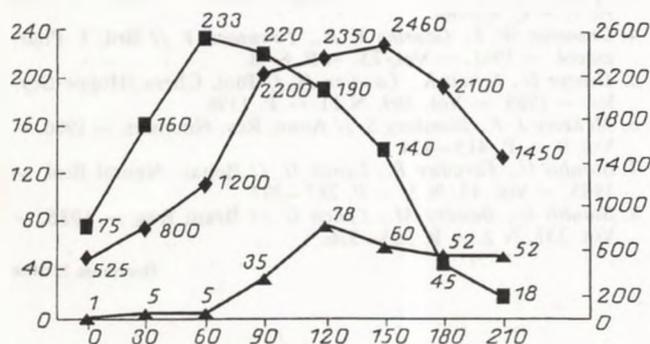
отсутствие четкого разграничения понятий реактивной и голодовой гипогликемий.

Патогенез гипогликемии при АИС определяется обратимым связыванием циркулирующего в плазме инсулина антителами [7]. После нагрузки углеводами высокая инсулинсвязывающая активность плазмы предотвращает необходимое увеличение уровня свободного, биологически активного инсулина. На утилизацию глюкозы расходуется оставшийся не связанным инсулин — его концентрация уменьшается, соответственно снижается и уровень гликемии. В результате этого практически весь инсулин плазмы оказывается в связанном антителами состоянии. Такой дисбаланс пулов связанного и не связанного антителами инсулина приводит к диссоциации определенной части комплекса инсулин-аутоантитело. Концентрация свободного инсулина возрастает, но на этот раз уже неадекватно снизившемуся через 3–5 ч после еды уровню сахара. Развивается реактивная гипогликемия со всей присущей ей симптоматикой [7].

При АИС всегда определяется очень высокий уровень общего инсулина (свободный + связанный), что является одним из критериев диагноза [7, 21, 47], а также повышенный адекватно инсулину или нормальный уровень С-пептида [6, 7]. Это объясняется компенсаторной реакцией в ответ на недостаток свободного физиологически активного гормона. Общий уровень инсулина, даже независимо от времени суток и приема пищи, может составить при АИС порядка 1000 мЕд/мл [8, 12, 32, 46]. Описано повышение уровня инсулина до 6000 мЕд/мл [3]. При инсулиноме, как показал анализ 60 случаев, содержание инсулина редко превышает 100 мЕд/мл [32]. Таким образом, гипогликемия в сочетании с уровнем инсулина выше 100 мЕд/мл позволяет предположить скорее АИС или экзогенное введение инсулина (артифициальная гипогликемия), чем инсулиному [3, 13]. Следует заметить, что имеются описания нескольких случаев, когда при явном АИС проба с 3-дневным голоданием оказалась положительной — гипогликемия 37–47 мг% (2,0–2,6 ммоль/л) через 14–15 ч с соответствующей симптоматикой [3]. Однако это скорее исключение; как правило, при АИС симптоматика гипогликемии в пробе с 3-дневным голоданием не развивается и не подтверждается лабораторно [43]. Артифициальную гипогликемию можно исключить, поскольку при АИС определяется нормальный или адекватно повышенный уровень С-пептида. Кроме того, при АИС, несмотря на постоянно, порой в десятки раз повышенный уровень общего инсулина, симптоматика гипогликемий развивается лишь периодически, а может и отсутствовать, поскольку большая часть инсулина связана антителами [43].

Раздельное определение уровня свободного и связанного антителами инсулина выявило повышение содержания обеих фракций, однако значительно большая часть приходится на связанный (92–98%), чем на свободный (3,5–4%) инсулин [7, 26]. Помимо прямого определения объема различных фракций инсулина, информативно исследование инсулинсвязывающей способности плазмы с использованием инсулина, меченного <sup>125</sup>I, — при АИС она повышается до 35–75%. Типична также динамика фракций инсулина на протяжении ОГТТ: пик концентрации общего инсулина приходится на 120–180-ю минуту (но гипогликемия отсутствует); затем, несмотря на то, что концентрация общего инсулина начинает уменьшаться, фракция свободного инсулина остается на высоком уровне (см. рисунок) и определяет развитие гипогликемии на 200–240-й минуте [7, 43]. Уровни С-пептида и проинсулина диагностического значения для АИС, по-видимому, не имеют, хотя случай гиперпроинсулинемии при нем описан [2].

Основой диагностики АИС является обнаружение аутоантител к инсулину с помощью радиоиммунного или иммуноферментного анализа [7, 21, 26, 46]. Радиоиммунный анализ является более специфичным в случае высокой аффинности антител к антигену, а иммуноферментный — более чувствительным в отношении антител с меньшей аффинностью, кото-



Динамика гликемии, уровней свободного и общего инсулина на протяжении ОГТТ (100 г глюкозы) при АИС [8].

По осям ординат: слева — гликемия (в мг%), справа — уровень инсулина (в мЕд/мл); по оси абсцисс — время ОГТТ (в мин).  
Ромб — общий инсулин; квадрат — гликемия; треугольник — свободный инсулин.

рые присутствуют в высокой концентрации [7, 49]. На основании анализа большого числа публикаций можно сказать, что АИС может быть обусловлен разными типами антител. Были описаны поликлональные антитела с высокой аффинностью и моноклональные антитела с низкой, при этом последние обычно присутствовали в особенно высокой концентрации [1, 3, 7, 15, 20]. Именно низкой аффинности антител придается значение в развитии дисбаланса пулов связанного с антителами и свободного инсулина в ответ на колебание уровня гликемии [7, 20]. J. Goldman [12] показал, что скорость диссоциации комплекса инсулин—антитело всегда сохраняется постоянной и составляет 0,09—5,73% в минуту. При значительной концентрации комплексов инсулин—антитело именно сохранение постоянства скорости их диссоциации приводит к высокому уровню свободного инсулина, определяя тем самым развитие гипогликемии. Аналогичный механизм гипогликемий в ряде случаев предполагается у больных сахарным диабетом [16]. По данным рабочей группы Хирата [20], константы аффинности основных компонентов поликлональных антител значительно ниже таковых для антител к экзогенному инсулину. Более того, исследуя константы аффинности методом иммуноблоттинга, можно дифференцировать аутоантитела от антител, вырабатываемых к экзогенно вводимому инсулину [14]. Антитела к инсулину относятся к IgG [1—50], чаще с легкими цепями к [3, 15, 24], но могут определяться и легкие цепи  $\lambda$ , причем соотношение частоты обнаружения типов легких цепей  $\kappa$  и  $\lambda$  такое же, как и для антител к экзогенно вводимому инсулину [31]. В большинстве случаев контринсулярные антитела пациентов с АИС не взаимодействуют с инсулинами животных, т. е. являются видоспецифичными. На основании этого можно сделать заключение, что антигенный эпитоп включает в себя специфичный для человеческого инсулина треоин в 30-м положении В-цепи [7]. Лишь небольшое число публикаций [31, 43] указывает на возможность перекрестного связывания с бычьим и свиным инсулинами.

При АИС были обнаружены и антиидиотипические антитела (антитела к антигенсвязывающему участку аутоантител к инсулину) [44]. Возможная вариабельность клинической картины (голодовая или постпрандиальная гипогликемия и т. д.) или бессимптомность течения процесса, по-видимому, обусловлены сложными сетевыми идиотип-антиидиотипическими взаимодействиями между инсулином, контринсулярными антителами, антиидиотипическими антителами к ним, а также антителами к инсулиновым рецепторам и т. д. [7]. Картина будет определяться сдвигом равновесия в ту или иную сторону. Вследствие гиперинсулинемии при АИС закономерно обнаруживается снижение концентрации рецепторов к инсулину [43].

АИС считается редким заболеванием. С момента его описания в 1970 г. к концу 1995 г. в мире описано около 250 случаев этого заболевания [15]. При этом подавляющее большинство случаев АИС отмечено в Японии [1—50], где данное заболевание считается третьей по частоте причиной гипогликемических состояний. Так, к декабрю 1992 г. в Японии описано 197 случаев АИС [21, 47], тогда как в Европе и США — немногим более 20 [21, 35]. Возрастной пик заболеваемости АИС приходится на 60—69 лет [47], хотя описаны случаи заболевания у детей [13, 30], беременных женщин [13] и даже новорожденных [13]. АИС примерно с одинаковой частотой встречается у мужчин и женщин [47]. Принципиальным моментом является то, что АИС в подавляющем большинстве случаев, независимо от тяжести гипогликемий, является транзиторным, самомитирующимся процессом [1—50]. Продолжительность гипогликемий при АИС чаще всего составляет около 3 мес, и примерно в 82% случаях в течение года наступает спонтанная ремиссия без какого-либо лечения [47]. Однако описано немало случаев, когда гипогликемии продолжали рецидивировать в течение года и более [13, 43, 47] и приобретали хронический характер [3, 7]. Проанализировав данные литературы за период, истекший со времени первого описания АИС, мы хотели бы предложить следующую клиническую классификацию, основанную на этиопатогенетическом принципе.

#### I. Идиопатический АИС.

#### II. Медикаментозно-индуцированный АИС.

#### III. АИС, сочетающийся с другими иммунопатологическими процессами и заболеваниями.

#### IV. АИС, сочетающийся с другими заболеваниями.

### I. Идиопатический АИС

Эта форма синдрома, если исходить из относительных показателей частоты, по-видимому, чаще встречается в Японии, тогда как в США и Европе АИС чаще представлен II и III вариантами [35]. Основываясь на ряде публикаций [7, 47], можно сделать вывод о том, что идиопатический АИС имеет склонность к более затяжному течению.

## II. Медикаментозно-индуцированный АИС

Эта форма АИС, по-видимому, является самой частой. В Японии на него приходится 43% случаев [47]. Препараты, с которыми связывают развитие АИС, чаще назначают по поводу аутоиммунных заболеваний, т. е. имеет место сочетание II и III форм синдрома. Все без исключения указанные препараты (метимазол, глутатион, пеницилламин, анальгин и др.) содержат в своей структуре сульфгидрильную группу [1, 50]. Последняя содержит немного препаратов, поэтому развитие АИС на фоне их применения вряд ли является совпадением [3].

Классическим и, по-видимому, самым частым примером является развитие АИС на фоне лечения диффузного токсического зоба метимазолом (тиамазолом) [3, 13, 15, 18, 26, 31, 40, 46, 47]. В подавляющем большинстве случаев полная отмена препарата приводила к ремиссии АИС [3, 31, 47], тогда как попытка его повторного назначения — к рецидиву [7, 47]. Неоднократно было показано, что прием метимазола может вызывать образование контринсулярных антител даже без развития гипогликемии [19, 41]. Y. Hirata [19] обнаружил аутоантитела к инсулину у 13 из 206 пациентов, получавших метимазол по поводу диффузного токсического зоба, у которых гипогликемий не было. И, напротив, у еще нелеченых пациентов и у пациентов, которым назначали пропилтиоурацил (сульфгидрильной группы не содержит), аутоантитела к инсулину не определялись. Не исключено, что такой побочный эффект метимазола в какой-то степени дозозависим. Во всех описаниях случаев АИС, спровоцированного метимазолом, указывается дозировка препарата 30—40 мг/сут. В то же время описан случай, когда АИС развился у пациентки только на фоне 3-го курса лечения диффузного токсического зоба метимазолом (между 1-м и 2-м курсами пациентку переводили на пропилтиоурацил, а 2-й и 3-й курсы разделяла 2-летняя ремиссия). При этом во 2-й курс метимазол назначали в дозе 5 мг, а в 3-й — 30 мг [15].

Другими препаратами, применение которых приводило к развитию АИС и которые содержат сульфгидрильную группу, являются пеницилламин (по поводу ревматоидного артрита) [3, 13, 20],  $\alpha$ -меркаптопропионил (тиопролин; по поводу катаракты, болезней печени, ревматоидного артрита) [23, 47], глутатион (по поводу болезней печени) [47], анальгин (метамизол) [7, 20, 48]. Как и в случае с метимазолом, отмена препарата, как правило, приводила к ремиссии АИС, а повторное назначение — к рецидиву.

Кроме того, было показано, что АИС может быть спровоцирован прокаинамидом и гидралазином [5], которые, как известно, могут вызывать "лекарственную волчанку". Экспериментальные исследования *in vitro* с анальгином (метамизолом) оказались безуспешными [48].

## III. АИС, сочетающийся с другими иммунопатологическими процессами и заболеваниями

Как уже указывалось, АИС часто возникает на фоне лечения диффузного токсического зоба и ревматоидного артрита. В связи с этим можно предположить, что АИС развивается не столько под влиянием препаратов, содержащих сульфгидрильную группу, сколько в рамках общего иммунопатологического процесса [20]. Скорее всего, верны оба положения. Высокий уровень антител к инсулину был описан при аутоиммунном тиреодите [25], при этом он сочетался со значительным титром антител к тиреоглобулину. При АИС описано повышение уровня антинуклеарных антител [6], антител к паритетальным клеткам [3], сочетание с  $V_{12}$ -дефицитной анемией [13].

Особо следует отметить случаи появления при АИС генерализованной полиморфной сыпи [3, 15] и лихорадки [3].

Недавно был описан случай развития типичного АИС при доброкачественной моноклональной гаммапатии [2], при этом было показано, что инсулинсвязывающей активностью обладал парапротеин, относящийся к фракции  $\gamma$ -глобулинов.

## IV. АИС, сочетающийся с другими заболеваниями

Описано развитие АИС у пациента в стадии декомпенсации алкогольного цирроза печени [35]. Интересно, что на фоне этих двух состояний затем развился третий редкий синдром — приобретенная коагулопатия, связанная с появлением циркулирующих ингибиторов фактора V, ставшая причиной смерти пациента. Развитие типичного АИС описано у пациентов, перенесших трансплантацию поджелудочной железы [42]. Имеется также сообщение о сочетании АИС с инсулиномой и ревматоидным артритом [11].

Следует упомянуть, что антитела к инсулину вне связи с АИС могут обнаруживаться перед манифестацией инсулинзависимого сахарного диабета или во время ее [29], однако при АИС их титр значительно выше [45].

Безусловно, предложенная классификация носит условный, ориентировочный характер, отражая современный уровень знаний по этому вопросу.

Этиология и патогенез АИС, как и большинства аутоиммунных заболеваний, неизвестны. О генетической предрасположенности свидетельствует значительно большая частота развития АИС у японцев. Есть также указание на несколько случаев АИС у кавказцев [49]. Материалы рабочей группы Хирата [8, 21, 45, 46] свидетельствуют о том, что АИС ассоциирован с гаплотипами HLA B17, CW4, DR4. При этом DR4 определялся у подавляющего числа пациентов, а анализ нуклеотидной последовательности DRB1, DQA1, DOB1 показал, что у всех пациентов она была DRB1\*0406, DQA1\*0301, DOB1\*0302, тогда как в контрольной группе такое сочетание было выявлено только у 14% обследованных [45]. R. Ziegler и соавт. [50] сообщили, что среди больных сахарным диабетом I типа антитела к инсулину чаще определяются именно у пациентов с HLA DR4. Однако ассоциация АИС с тем или иным гаплотипом HLA не является жесткой, поскольку описано его развитие и при других вариантах [7, 15].

Многие исследователи полагают, что в этиологии АИС ключевую роль играют изменения антигенных свойств инсулина [10, 13, 23, 28, 31]. Эти изменения, по-видимому, носят посттрансляционный характер, так как если бы изменение структуры молекулы инсулина было детерминировано генетически, то это бы не вызвало антителиобразования [31]. Более того, ни у одного из пациентов с сахарным диабетом, у которого была описана аномальная структура инсулина, не было обнаружено ни антител к инсулину, ни гипогликемий [31, 36]. При АИС антителиобразование, по-видимому, связано с транзитной продукцией измененного инсулина. Это подтверждается тем, что, как указывалось, АИС всегда является приобретенным, транзитным и достаточно доброкачественным процессом [31, 46]. S. Seino и соавт. [31], используя жидкостную хроматографию, выявили изменение миграции инсулина у 2 из 3 пациентов с АИС; инсулин оказался более гидрофобен, чем нормальный инсулин человека, свиньи и быка. В обоих случаях изменения структуры носили разнородный характер. При этом у 1 пациента на фоне развернутого АИС в плазме определялся как аномальный, так и нормальный инсулин, тогда как в фазе ремиссии — только нормальный. Ряд исследователей изменений структуры инсулина не выявили [39, 43, 48]. S. Такаюта и соавт. [39], исследуя инсулин, полученный прямо из поджелудочной железы пациентов с АИС, изменений его структуры не обнаружили. Теоретически сульфгидрильная группа может контактировать с дисульфидными мостиками молекулы инсулина, изменяя его иммуногенность, а также участвовать в образовании гаптенных [3]. Не исключено, что изменение структуры молекулы инсулина происходит вторично — как результат воздействия антитела [31]. Паранеопластический генез АИС исключен во всех имеющихся описаниях синдрома [25].

E. Venson и соавт. [3] и A. Ohneda и соавт. [28] независимо друг от друга описали случаи, когда частичная резекция по поводу предполагавшейся инсулиномы была произведена раньше, чем поставлен диагноз АИС. И в том и в другом случае при морфологическом исследовании материала была выявлена гиперплазия  $\beta$ -клеток островков Лангерганса. Гистологическая картина оказалась аналогичной таковой, которая была выявлена у 6% из 1067 пациентов, оперированных по поводу гипогликемии и гиперинсулинемии [37].

Как уже упоминалось, примерно в 82% случаев АИС в течение года развивалась спонтанная ремиссия [47]. При резекции тяжелых гипогликемий (вплоть до прекомаатозного состояния) с различным успехом использовали глюкокортикоиды, иммунодепрессанты [3] и даже частичную резекцию поджелудочной железы [3, 28]. Лечение выбора считается дробное питание с увеличением содержания балластных веществ и редуцированным количеством углеводов [7].

В заключение отметим, что, по нашему представлению, АИС, всегда рассматривавшийся как казуистика, на самом деле, по-видимому, встречается чаще. Сами по себе гипогликемические состояния не являются редкостью. Так, в одной клинике 1,2% всех госпитализированных в течение 6 мес пациентов имели эпизоды гипогликемий с уровнем сахара 49 мг% (2,7 ммоль/л) и ниже [9]. Гипогликемии, особенно у пожилых пациентов без сахарного диабета на фоне относительного гиперинсулинизма, часто являются диагностической проблемой для врача. Вопреки распространенному мнению идиопатическая реактивная гипогликемия является достаточно редким заболеванием и лишь одним из проявлений постпрандиального синдрома [27]. Рассматривавшаяся ранее взаимосвязь постпрандиальной гипогликемии с манифестацией сахарного диабета, как выяснилось, не имеет четких доказательств. Убедительные научные данные, которые подтверждали бы правоту таких достаточно принятых диагнозов, как функциональная, ранняя диабетическая и алиментарная гипоглике-

мия, отсутствуют [22, 34, 38]. За такими диагнозами могут скрываться вполне определенные причины гипогликемий, в том числе и АИС, а зачастую и отсутствие гипогликемических расстройств как таковых (идиопатический постпрандиальный синдром) [33]. Под этим термином понимают комплекс неспецифических симптомов, возникающих постпрандиально и в принципе похожих на гипогликемические (адренергические, вегетососудистые, нарушения сознания, постпрандиальная гипотензия и др.), однако не связанных с гипогликемией. Причина вероятной гиподиагностики АИС, кроме технических сложностей, связанных с необходимостью определения аутоантител к инсулину, по-видимому, заключается в том, что синдром в большинстве случаев является относительно доброкачественным и самолимитирующимся, не представляя, таким образом, острой клинической проблемы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Arky R. A. // N. Engl. J. Med. — 1982. — Vol. 307. — P. 1455—1477.
2. Arquist H. J., Halbau P. A., Mathiesen U. L. // J. intern. Med. — 1993. — Vol. 234, N 4. — P. 421—427.
3. Benson E. A., Ho P., Wang C. et al. // Arch. intern. Med. — 1984. — Vol. 144. — P. 2351—2354.
4. Berson S. A., Yalow R. S., Bauman A. et al. // J. clin. Invest. — 1956. — Vol. 35. — P. 170—190.
5. Blackshear P. J., Rotner H. E., Krianeunas K. A. M., Kahn C. R. // Ann. intern. Med. — 1983. — Vol. 99. — P. 182—184.
6. DiCerbo A., Tassi V., Scillitani A. et al. // J. Endocrinol. Invest. — 1995. — Vol. 18, N 4. — P. 229—304.
7. Discher T. // Diabetes und Immunologie — eine wechselseitige Beziehung. — Frankfurt am Meine, 1993. — S. 122—135.
8. Eguchi Y., Hirata Y., Hasumi S. et al. // J. Jpn. Diabet. Soc. — 1989. — Vol. 32. — P. 887—892.
9. Fischer K. F., Lees J. A., Newman J. H. // N. Engl. J. Med. — 1986. — Vol. 315. — P. 1245—1250.
10. Folling I., Norman N. // Diabetes. — 1972. — Vol. 21. — P. 814—826.
11. Fushimi H., Tsukuda S., Hanafusa T. et al. // Endocrinol. Jap. — 1980. — Vol. 27. — P. 679—687.
12. Goldman J., Baldwin D., Pugh W. et al. // Diabetes. — 1978. — Vol. 27. — P. 653—660.
13. Goldman J., Baldwin D., Rubinstein A. M. et al. // J. clin. Invest. — 1979. — Vol. 63. — P. 1050—1059.
14. Greenbaum C. J., Wilken T. J., Palmer J. P. // Diabetologia. — 1992. — Vol. 35. — P. 798—804.
15. Hakamata M., Itoh M., Sudo Y., Miyata N. // Intern. Med. — 1995. — Vol. 34, N 5. — P. 410—412.
16. Harwood R. // N. Engl. J. Med. — 1960. — Vol. 262. — P. 978—979.
17. Hirata Y., Ishizu H., Ouchi N. et al. // J. Jpn. Diabet. Soc. — 1970. — Vol. 13. — P. 312—319.
18. Hirata Y., Tasaka Y., Odagiri R. et al. // Diabetes. — 1977. — Vol. 26. — P. 401.
19. Hirata Y. // Lancet. — 1983. — Vol. 2. — P. 1037—1038.
20. Hirata Y. // Hypoglycemia. — New York, 1987. — P. 105—118.
21. Hirata Y., Uchigata Y. // Diabet. Res. clin. Pract. — 1994. — Vol. 24, Suppl. — P. 153—157.
22. Hogan M. J., Service F. J., Shabrough F. W., Gerich J. E. // Mayo Clin. Proc. — 1983. — Vol. 58. — P. 491—496.
23. Ichihara K., Shima K., Saito Y. et al. // Diabetes. — 1977. — Vol. 26. — P. 500—506.
24. Kahn C. R., Rosenthal A. S. // Diabet. Care. — 1979. — Vol. 2. — P. 283—295.
25. Kuzuya T., Matsuda A., Saito T., Yoshida S. // Endocrinol. Jap. — 1978. — Vol. 25, N 6. — P. 597—606.
26. Lu C. C., Lee J. K., Lam H. C. et al. // Chung Hua I Hsueh Tsa Chin Tapei. — 1994. — Vol. 54, N 5. — P. 353—358.
27. Marks V., Teale J. D. // Baillieres clin. Endocrinol. Metab. — 1993. — Vol. 7, N 3. — P. 705—729.
28. Ohneda A., Tominaga M., Ito J. I., Noguchi A. // Diabetes. — 1974. — Vol. 23. — P. 41—50.
29. Palmer J. P. // Diabet. Metab. Rev. — 1987. — Vol. 3. — P. 1005—1015.
30. Rovira A., Valverde I., Escorihuela E., Lopez-Linares // Acta paediatr. scand. — 1982. — Vol. 71. — P. 343—345.
31. Seino S., Fu Z. Z., Marks W. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1986. — Vol. 62, N 1. — P. 64—69.
32. Service F. J., Dale A. J. D., Elveback L. R. et al. // Mayo Clin. Proc. — 1976. — Vol. 51. — P. 417—429.
33. Service F. J. // N. Engl. J. Med. — 1989. — Vol. 321. — P. 1472—1474.
34. Service F. J. // Ibid. — 1995. — Vol. 332, N 17. — P. 1144—1152.
35. Shah P., Mares D., Pescovitz M. et al. // Gastroenterology. — 1995. — Vol. 109, N 5. — P. 1673—1676.

36. Shoelson S., Haneda M., Blix P. et al. // Nature. — 1983. — Vol. 302. — P. 540—547.
37. Stefanini P., Carboni M., Pastrassi N. et al. // Surgery. — 1974. — Vol. 75. — P. 597—609.
38. Suorgaard O., Binder C. // Brit. med. J. — 1990. — Vol. 300. — P. 16—18.
39. Takayama S., Eugchi Y., Saito M. et al. // Jpn. J. Diabet. — 1983. — Vol. 26. — P. 428—434.
40. Takayama S., Hirata Y. // Diabetes. — 1983. — Vol. 32, Suppl. — P. 150—A.
41. Takei M. // J. Tokyo Wom. Med. Coll. — 1980. — Vol. 50. — P. 54—68.
42. Tran M. P., Larsen J. L., Duckworth W. C. // Diabet. Care. — 1994. — Vol. 17, N 9. — P. 988—993.
43. Trenn G., Eysselein V., Mellinshoff H. U. et al. // Klin. Wochenschr. — 1986. — Bd 64. — S. 929—934.
44. Uchigata Y., Tahayama-Hasumi S., Kawaniski K., Hirata Y. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 966—970.
45. Uchigata Y., Kuwata S., Tokunaga K. et al. // Lancet. — 1992. — Vol. 339. — P. 393—394.
46. Uchigata Y., Kuwata S., Tsuchima T. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1993. — Vol. 77, N 1. — P. 249—254.
47. Uchigata Y., Eguchi Y., Tahayama-Hasumi S., Omori Y. // Diabet. Res. clin. Pract. — 1994. — Vol. 22, N 2—3. — P. 89—94.
48. Wasada T., Eguchi Y., Tahayama S. et al. // J. clin. Endocrinol. Metab. — 1988. — Vol. 66. — P. 153—157.
49. Wilkin T. J., Armitage M. // Hypoglycemia. — New York, 1987. — P. 119—131.
50. Ziegler R., Alpert C. A., Awdeh Z. L. et al. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40. — P. 709—714.

Поступила 16.09.96

© П. П. ГОЛИКОВ, 1997

УДК 612.018:577.175.53:577.175.852].084

П. П. Голиков

## РЕГУЛЯЦИЯ ФУНКЦИИ ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ И АКТИВНОСТИ АНГИОТЕНЗИНПРЕВРАЩАЮЩЕГО ФЕРМЕНТА<sup>1</sup>

НИИ скорой помощи им. Н. В. Склифосовского (дир. — проф. А. С. Ермолов), Москва

Центральным звеном механизма действия глюкокортикоидов являются специфические цитоплазматические глюкокортикоидные рецепторы (ГР). Их синтез программируется 1 геном хромосомы 5 [44]. Непосредственный биосинтез ГР происходит в эндоплазматическом ретикулуме цитоплазмы [12]. В цитоплазме ГР связываются с белками теплового шока (БТШ, шапероновые белки) мол. массой 50, 70, 90 кД [20, 59]. Мол. масса комплекса ГР—БТШ составляет 300 кД [14]. В отсутствие глюкокортикоидов ГР локализованы преимущественно в цитоплазме [30, 63]. В 1 клетке содержится от 5000 до 100 000 специфических ГР. ГР обнаружены во многих тканях млекопитающих [13], однако определенные ткани не содержат ГР: промежуточная доля гипофиза, купферовские и эндотелиальные клетки печени, почечные клубочки и проксимальные извитые канальцы [12, 31].

В физиологических условиях взаимодействие глюкокортикоида с гетероолигомером ГР приводит к диссоциации БТШ из рецепторного комплекса, активации и димеризации ГР. Лигандактивированный гомодимер ГР транслоцируется в ядро клетки. При этом каждая субединица гомодимера ГР связывает по 1 молекуле глюкокортикоидного гормона. Процесс транслокации гомодимера ГР в ядро клетки контролируется специфическим механизмом, включающим сигнал для ядерной миграции внутри самого ГР и механизм в ядре, реагирующий на этот сигнал [32, 41].

Ключевым звеном в механизме действия ГР является их избирательность в регуляции активности гена, тесно связанная с первичным действием глюкокортикоид-рецепторного комплекса на хроматин, состоящий из ДНК, упакованной вместе с гистонами и другими белками в ядре клетки. Лигандактивированные ядерные гомодимеры связываются со специфическими последовательностями ДНК вблизи генов-мишеней. Эти специфические последовательности ДНК, опосредующие влияние ГР на экспрессию транскрипции, названные элементами глюкокортикоидной реакции (ЭГР), хорошо визуализируются, так как связывание ГР с ЭГР сопровождается разрывом хроматиновой структуры, вызывающим "обнажение" ДНК [20, 64]. Взаимосвязь гомодимера ГР с ЭГР ДНК инициирует транскрипцию [18]. Этот процесс тесно сопряжен со связыванием РНК-полимеразы-II с промотором ДНК, последующей дерепрессией оператора и активацией функции оперона в целом [11].

Механизм действия ГР на индукцию экспрессии генов тесно связан с молекулярной структурой ГР. С помощью сайт-направленного мутагенеза на уровне сДНК в молекуле ГР было обнаружено 3 функциональных домена: домен трансактивации; домен, связывающий ДНК, и домен, связывающий лиганд [29].

Домен трансактивации (аминотерминальный, N-терминальный, иммуногенный, регуляторный) является наименее консервативным. Большинство моно- и поликлональных антител к ГР распознают этот домен. Домен трансактивации прямо не взаимодействует с ДНК, однако является дополнительным

вспомогательным фактором транскрипции, способствующим путем стабилизации сборки комплекса прединициации на промоторе увеличению частоты инициаций транскрипции. Эта стабилизация является результатом взаимодействия белок-белок между регуляторным фактором транскрипции (домен транскрипции) и одним фактором или более внутри комплекса прединициации [36]. На аминотерминальном конце домена ГР происходит фосфорилирование сериновых и треониновых остатков [19, 38, 52]. При этом фосфорилирование этого региона ГР увеличивается в 2—3 раза после связывания глюкокортикоида, но не антиглюкокортикоида [43]. Очевидно, что стероидзависимое фосфорилирование этого региона ГР играет важную роль в процессах транскрипции.

Домен ГР, связывающий ДНК, ответствен за специфические ДНК-связывающие активности рецептора и является наиболее консервативным. Домен проявляет функции димеризации, ядерной локализации и трансактивации. Располагается он в средней части молекулы ГР. Функция димеризации домена, связывающего ДНК, выявляется при обработке цитозольного рецептора растворами с высоким содержанием соли и в отсутствие глюкокортикоидов. При этом происходят диссоциация шапероновых белков и активация специфической ДНК-связывающей способности ГР [53]. Из этого следует, что шапероновые белки маскируют ДНК-связывающий участок ГР и таким образом блокируют взаимодействие ГР с геномом в отсутствие глюкокортикоидов. Образование димеров увеличивает средство ГР к их соответствующим ЭГР, преимущественно благодаря увеличению размера контактирующей с ДНК поверхности. Внутри домена, связывающего ДНК, идентифицированы димеризационные взаимодействия [26, 28, 51].

Карбокситерминальный домен (С-терминальный; домен, связывающий лиганд) молекулы ГР реализует гормонсвязывающую функцию [38]. Эта часть молекулы ГР также содержит остатки аминокислот, которые взаимодействуют с БТШ, сигналом ядерной локализации, проявляют функции димеризации и транскрипционной трансактивации [39, 45, 57]. Лигандсвязывающий домен распознает специфическую трехмерную конфигурацию. Гидрофобные взаимодействия внутри лигандсвязывающего домена играют важную роль в связывании глюкокортикоидов. Вставки или точечные мутации в пределах этого домена разрывают связывание стероида [38].

В последнее время установлено, что ген ГР транскрибируется в 2 альтернативных сплайсинг-продукта: классический ГР<sub>α</sub> и нелигандсвязывающий ГР<sub>β</sub>. Установлено, что мРНК ГР<sub>β</sub> и ее рецептор экспрессируются почти во всех тканях и локализованы в цитоплазме клеток в комплексе с белками 90 кД. В присутствии глюкокортикоида ГР<sub>β</sub> гетеродимеризуется с лигандсвязывающим ГР<sub>α</sub> и транслоцируется в ядро, чтобы действовать, как доминантный отрицательный ингибитор классического ГР<sub>α</sub>. Чрезмерная экспрессия ГР<sub>β</sub> в клетках вносит основной вклад в состояние глюкокортикоидной резистентности путем нарушения процесса димеризации рецептора и снижения трансрепрессирующей активности гетеродимеров ГР<sub>α</sub>—ГР<sub>β</sub> по сравнению с гомодимерами ГР<sub>α</sub>—ГР<sub>α</sub> [15, 24, 37].

Между относительным насыщением ГР гормоном и относительной метаболической реакцией на глюкокортикоидный

<sup>1</sup> По материалам III Всероссийского съезда эндокринологов.