

А. В. Кривцов, В. А. Ткачук

О ВОЗМОЖНОМ УЧАСТИИ ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛ-3-КИНАЗЫ В АКТИВАЦИИ ИНСУЛИНОМ И ЭПИДЕРМАЛЬНЫМ ФАКТОРОМ РОСТА ФОСФОЛИПАЗЫ С, ГИДРОЛИЗУЮЩЕЙ ГЛИКОЗИЛФОСФАТИДИЛИНОЗИТОЛ¹

Лаборатория молекулярной эндокринологии (руководитель — член-корр. РАН В. А. Ткачук) Института экспериментальной кардиологии (дир. — акад. РАМН В. Н. Смирнов), Российский кардиологический научно-производственный комплекс (генеральный директор — акад. Е. И. Чазов) Минздрава РФ, Москва

В основе плеiotропного действия инсулина лежит возможность передачи сигнала от инсулинового рецептора на целый ряд внутриклеточных эффекторных систем, одной из которых является гликозилфосфатидилинозитолспецифичная фосфолипаза С (ГФИ-ФЛС), гидролизующая мембранные инозитолсодержащие гликофосфолипиды с образованием диацилглицерина, активатора фосфолипазы С, и инозитолфосфогликана, одного из претендентов на роль вторичного посредника в передаче метаболического сигнала инсулина. Для выяснения механизмов сопряжения ГФИ-ФЛС с рецепторами инсулина и факторов роста мы исследовали гидролиз гликозилфосфатидилинозитола в клетках Rat1 и обнаружили, что инсулин и эпидермальный фактор роста (ЭФР) активируют гидролиз гликозилфосфатидилинозитола до инозитолфосфогликана на 20 и 40% соответственно ($p < 0,001$), а специфичный ингибитор фосфатидилинозитол-3'-киназы вортманнин устраняет это влияние инсулина и ЭФР. На основании этих данных можно предположить, что фосфатидилинозитол-3'-киназа участвует в проведении сигналов от рецепторов инсулина и ЭФР на ГФИ-ФЛС.

The pleiotropic effect of insulin is based on signal transfer from insulin receptor to a series of intracellular effector systems, one of which is glycosyl phosphatidyl inositol (GPI) specific phospholipase C (PLC), hydrolyzing membranous inositol-containing glycopospholipids to produce diacylglycerol, a phospholipase C activator, and inositolphosphoglycerol (IPG), a probable secondary messenger in transfer of insulin metabolic signal. For disclosing the mechanisms of GPI-PLC conjugation with insulin receptors and growth factors, we analyzed GPI hydrolysis in Rat1 cells and found that insulin and epidermal growth factors (EGF) activate GPI hydrolysis to IPG by 20 and 40%, respectively ($p < 0.001$), while specific phosphatidylinositol-3'-kinase (PI_3 kinase) inhibitor wortmannin cancels this insulin and EGF effect. These data permit us to hypothesize the participation of PI_3 kinase in signal transfer from insulin and EGF receptor GPI-PLC.

Инсулин является одним из наиболее важных гормонов, регулирующих в тканях млекопитающих процессы внутриклеточного метаболизма, клеточного роста и дифференцировки [9, 32, 34]. Метаболические эффекты инсулина связаны с увеличением транспорта глюкозы через плазматическую мембрану, накоплением углеводов, липидов и белков в адипоцитах и мышцах, снижением скорости глюконеогенеза и гликогенолиза, ускорением гликолиза и синтеза гликогена в печени [32]. Гидролиз мембранных инозитолсодержащих гликофосфолипидов под действием фосфолипазы С, специфичной в отношении гликозилфосфатидилинозитола (ГФИ-ФЛС), является неотъемлемой частью инсулиновой сигнализации [23, 24]. По субстратной специфичности эта фосфолипаза отличается от фосфолипаз $C\beta$ и $C\gamma$, активируемых гормонами и факторами роста [5, 6, 28]. ГФИ-ФЛС гидролизует мембранные гликофосфолипиды с образованием диацилглицерина, активирующего протеинкиназу С, и инозитолфосфогликана. Предполагается, что инозитолфосфогликан выполняет функции вторичного посредника инсулина [14, 27], влияет на уровень цАМФ, регулирует активность фосфодиэстеразы, цАМФ-зависимой протеинкиназы, пируватдегидрогеназы, ключевых ферментов глюконеогенеза и некоторых других ферментов углеводного обмена [23, 25]. Об-

разование инозитолфосфогликана положительно коррелирует с дефосфорилированием белков по серин-треониновым остаткам [12, 15, 20, 24, 26].

Связывание инсулина рецептором стимулирует его тирозинкиназную активность, что приводит к аутофосфорилированию рецептора и фосфорилированию внутриклеточных субстратов Shc, ИРС-1 и ИРС-2 [1, 30, 31]. Основным субстратом инсулинового рецептора является ИРС-1 [33]. Фосфорилированный ИРС-1 выполняет функции адаптора и взаимодействует с другими сигнальными белками, содержащими SH2-домены (Src Homology 2) — SHP-2, Nck, Grb, фосфатидилинозитол-3'-киназой (ФИ₃-киназой) и др. [33]. ФИ₃-киназа представляет собой гетеродимер, состоящий из регуляторной (p85) и каталитической (p110) субъединиц. Взаимодействие ИРС-1 с p85 вызывает активацию каталитической субъединицы киназы [18, 21]. Точная роль ФИ₃-киназы в передаче метаболического сигнала инсулина до сих пор точно не установлена. Существуют данные о том, что фосфорилирование ИРС-1 и последующая активация ФИ₃-киназы связаны со стимуляцией транспорта глюкозы [3, 10, 19]. Показано, что активация ФИ₃-киназы инсулином вызывает транслокацию ГТ₄ в плазматическую мембрану [8]. Об участии ФИ₃-киназы в транспортных процессах может свидетельствовать и тот факт, что ее каталитическая субъединица гомологична дрожжевому белку Vps34p, который обладает ФИ₃-киназной активностью и участвует в везикулярном транспорте белков [7].

¹ Выражаем благодарность М. Ю. Меньшикову за участие в обсуждении результатов и помощь в подготовке этой статьи.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Сороковской образовательной программы грантом А-98-1739 аспиранту А. В. Кривцову и грантом РФФИ 96-04-50714.

Подавление каталитической активности FI_3 -киназы специфическим ингибитором вортманнином [22] приводит к снижению синтеза гликогена. Эти данные свидетельствуют об участии FI_3 -киназы в передаче инсулинового сигнала на гликогенсинтазу. В то же время активация FI_3 -киназы в L6-миоцитах такими агентами, как интерлейкин-4 и фактор роста из тромбоцитов (ТФР), не приводит к транслокации GT_4 в мембрану [7]. В 3T3-L1-адипоцитах действие ТФР на транспорт глюкозы, синтез липидов и гликогена выражено значительно слабее, чем действие инсулина [35]. Это свидетельствует о том, что для реализации метаболических эффектов инсулина, по-видимому, необходимо включение специфических компонентов инсулиновой сигнализации. Одним из таких компонентов может служить инозитолфосфолипид, который влияет на активность гликогенсинтазы [15].

Образование инозитолфосфолипидов стимулируют также факторы роста [4], поэтому в этой работе мы сравнивали действие эпидермального фактора роста (ЭФР) с действием инсулина на активность ГФИ-ФЛС. Полученные данные позволяют предположить, что в проведении сигнала от рецептора инсулина и ЭФР на ГФИ-ФЛС участвует FI_3 -киназа, цитоплазматический фермент, который фосфорилирует фосфоинозитиды и некоторые белки, тем самым изменяя их активность [13, 29].

Материалы и методы

Культивирование клеток. Клетки RatI культивировали в 6% CO_2 -инкубаторе в среде DMEM с добавлением 10% FCS, 2 мМ L-глутамин, 500 ЕД/мл пенициллина и 500 мкг/мл стрептомицина. Клетки пассировали, обрабатывая 0,25% раствором трипсина и 1 мМ ЭДТА в PBS. Количество клеток подсчитывали с помощью цито-счетчика "Coulter". Перед стимуляцией клетки инкубировали 10–18 ч в среде DMEM без FCS с добавлением 500 ЕД/мл пенициллина и 500 мкг/мл стрептомицина. Плотность клеток перед стимуляцией составляла 80–90%.

Мечение клеток и выделение гликозилфосфатидилинозитола (ГФИ). Клетки RatI метаболически метили $[6\text{-}^3\text{H}]$ -гликозамином (5 мКи/мл) в течение 24 ч в чашках Петри диаметром 82 мм в среде DMEM. Перед стимуляцией лигандами клетки выдерживали без сыворотки 2 ч, после чего стимулировали инсулином (10^{-8} М) и ЭФР (10^{-9} М). По окончании инкубации чашки Петри с клетками переносили на лед, среду культивирования удаляли и клетки фиксировали в 1 мл 10% ТХУ, соскабливали с чашек и собирали в центрифужные микропробирки вместимостью 1,7 мл, после чего чашки промывали еще раз с 0,5 мл 10% ТХУ и растворы объединяли. Клетки в ТХУ оставляли при комнатной температуре на 15 мин, затем центрифугировали при 1500 g в течение 5 мин. Осадок экстрагировали в 0,5 мл смеси хлороформ–метанол–HCl (0,05 н.) в соотношении 1:2 в течение 15 мин, экстракцию повторяли в 0,25 мл смеси, затем экстракты объединяли и в пробирку добавляли 0,25 мл хлороформа и 0,25 мл 0,1 М KCl.

После сильного встряхивания фазы разделяли центрифугированием при 10 000 g в течение 5 мин, водную фазу отбирали и промывали в 0,25 мл хлороформа, после чего фазы разделяли и органические экстракты объединяли, промывали в 0,25 мл 0,1 М KCl в 50% метаноле, после 30-минутной инкубации при -20°C фазы разделяли центрифугированием, органическую фазу упаривали в вакуумной сушке. Сухое вещество перерастворяли в 50 мкл смеси хлороформ–метанол (2:1) и образец наносили на пластину для тонкослойной хроматографии (Silicia Gel 60; фирма "Merck").

Хроматографию проводили дважды в системе хлороформ–метанол–ацетон–уксусная кислота–вода (10:4:2:2:1) до прохождения фронтом 18 см. В качестве стандартов использовали нейтральные липиды, фосфатидилинозитол, фосфатидилхолин. После окончания хроматографии пятно ГФИ вырезали и элюировали метанолом в течение 2 ч, затем раствор упаривали, сухое вещество перерастворяли в 50 мкл смеси хлороформ–метанол (2:1) и проводили вторую хроматографию в системе хлороформ–метанол– NH_4OH –вода (45:45:4:10), в качестве стандартов использовали фосфатидную кислоту, фосфатидилинозитолфосфат, фосфатидилхолин, фосфатидилинозитол и нейтральные липиды. После прохождения фронтом растворителя 18 см хроматографию прекращали, пластину высушивали, область с R_f 0,5–0,56 [4] вырезали и количество включенного $[^3\text{H}]$ -гликозамина измеряли в сцинтилляционном счетчике.

Обработка клеток вортманнином, конканавалином А и гентамицином. Клетки обрабатывали вортманнином (50 нМ), конканавалином А (10 мкг/мл) или гентамицином (50 мкМ) в течение 30 мин перед стимуляцией факторами роста в культуральной среде без сыворотки.

Материалы. В работе использовали: $[6\text{-}^3\text{H}]$ -гликозамин (фирма "Amersham"), вортманнин (фирма "Sigma"), конканавалин А (фирма "Sigma"), гентамицин (фирма "Flow Laboratories"), FCS, DMEM, пенициллин и стрептомицин (фирма "Gibco BRL"), инсулин (фирма "Eli Lilly & Co."), EGF (фирма "Toyoobo Corp."). Остальные реактивы получены от фирм "Sigma", "Fluka" и "Merck".

Результаты и их обсуждение

Для изучения реакции расщепления ГФИ клетки RatI ($2 \cdot 10^6$) метаболически метили $[6\text{-}^3\text{H}]$ -гликозамином, который включается в ГФИ [24]. После стимуляции факторами роста из клеток экстрагировали фракцию заряженных липидов, из которой с помощью двух последовательных тонкослойных хроматографий (сначала в кислых, а затем в щелочных условиях) выделяли фракцию ГФИ, количество которого определяли по $[^3\text{H}]$ -радиоактивности образцов. На рис. 1 показано изменение количества выделяемого ГФИ при стимуляции клеток RatI ЭФР и инсулином. Через 30 мин после начала стимуляции клеток ЭФР количество ГФИ в мембране сокращалось на 40% ($p < 0,001$), тогда как стимуляция клеток инсулином вызывала меньший (до 20%) гидролиз ГФИ ($p < 0,001$). В отличие от других исследователей

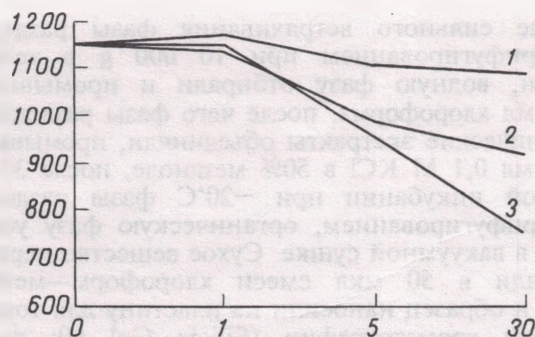


Рис. 1. Временная зависимость гидролиза ГФИ при действии факторов роста.

Клетки Rat1 ($2 \cdot 10^6$) метаболитически метили [6-³H]-глюкозамином 24 ч, инкубировали без сыворотки 2 ч, после чего стимулировали в течение указанного времени инсулином (10 нМ) и ЭФР (1 нМ). Здесь и на рис. 2, 3 по осям ординат — уровень ГФИ в клетке (в нмг/мин). По оси абсцисс — время (в мин). Здесь и на рис. 2: 1 — без обработки; 2 — инсулин; 3 — ЭФР.

[2, 4, 24], которые наблюдали влияние факторов роста на образование инозитолфосфогликана уже через 30 с, в наших экспериментах детектируемый гидролиз ГФИ начинался после 5-минутной стимуляции клеток. ЭФР стимулировал гидролиз ГФИ в значительно большей степени, чем инсулин, по-видимому, благодаря большей экспрессии рецептора ЭФР на поверхности клеток Rat1, чем инсулинового рецептора [11]. В пользу того, что гидролиз ГФИ осуществляется фосфолипазой C, специфичной в отношении ГФИ [26], свидетельствуют данные двух независимых экспериментов, из которых видно (рис. 2), что этот процесс чувствителен к ингибитору ГФИ-ФЛС конканавалину А [16] и активатору ГФИ-ФЛС гентамицину [17]. При добавлении конканавалина А к клеткам Rat1 за 30 мин до стимуляции факторами роста гидролиз ГФИ практически полностью подавлялся, при 30-минутной обработке клеток гентамицином наблюдалось снижение количества выделяемого ГФИ на 31%, одновременная 30-минутная стимуляция клеток ЭФР и обработка гентамицином вызывали снижение количества ГФИ на 56%, а инсулином и гентамицином — на 37% ($p < 0,001$).

Известно, что активация инсулинового рецептора и рецептора ЭФР приводит к активации FI_3 -киназы, которая играет ключевую роль в активации многочисленных внутриклеточных фермента-

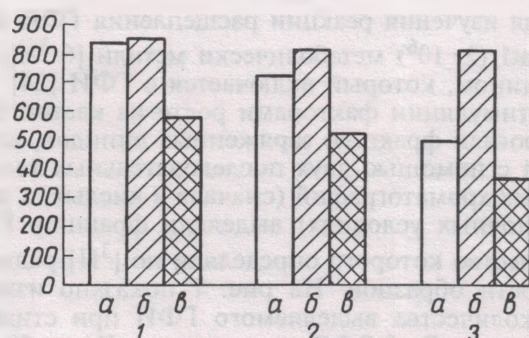


Рис. 2. Чувствительность гидролиза ГФИ к действию гентамицина и конканавалина А.

Клетки Rat1 ($2 \cdot 10^6$) преинкубировали 30 мин с конканавалином А (10 мкг/мл) или гентамицином (50 мкг/мл), а затем стимулировали 30 мин инсулином (10 нМ) или ЭФР (1 нМ). а — контроль; б — конканавалин А; в — гентамицин.

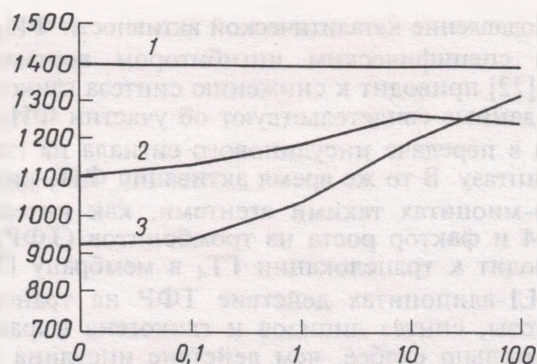


Рис. 3. Ингибирование вортманнином активации ГФИ-ФЛС инсулином и ЭФР.

Клетки Rat1 ($2 \cdot 10^6$) преинкубировали с вортманнином 30 мин, после чего их стимулировали инсулином (10 нМ) или ЭФР (1 нМ) 30 мин. 1 — уровень ГФИ в отсутствие обработки клеток вортманнином, инсулином и ЭФР; 2 — инсулин; 3 — ЭФР. По оси абсцисс — концентрация вортманнина (в нМ).

тивных систем [13, 29]. Для выяснения возможной роли FI_3 -киназы в активации ГФИ-ФЛС перед стимуляцией клеток инсулином и ЭФР мы преинкубировали клетки в течение 30 мин с вортманнином, специфическим ингибитором FI_3 -киназы. Как видно на рис. 3, вортманнин подавляет активацию ГФИ-ФЛС инсулином и ЭФР, причем дозовые зависимости ингибирования FI_3 -киназы и гидролиза ГФИ совпадали (10–50 нМ), что свидетельствует о возможном участии FI_3 -киназы в процессе передачи сигнала от рецепторов инсулина на ГФИ-ФЛС.

Выводы

1. В клетках Rat1 инсулин и ЭФР стимулируют гидролиз ГФИ.
2. Ингибиторный и активаторный анализ свидетельствует о том, что данные эффекты инсулина и ЭФР опосредуются ГФИ-ФЛС.
3. Влияние инсулина и ЭФР на гидролиз ГФИ подавлялось вортманнином в диапазоне концентраций 10–50 нМ, при которых он ингибирует FI_3 -киназу, что указывает на возможное участие этого фермента в передаче регуляторного сигнала от рецепторов инсулина и ЭФР на ГФИ-ФЛС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Araki E., Lipos M. A., Patti M. E. et al. // Nature. — 1994. — Vol. 372, N 502. — P. 186–190.
2. Avila M. A., Clemente R., Varela-Nieto I. // Biochem. J. — 1992. — Vol. 282. — P. 681–686.
3. Cheatham B., Vlahos C. J., Cheatham L. et al. // Mol. Cell Biol. — 1994. — Vol. 14, N 7. — P. 4902–4911.
4. Clemente R., Jones D. R., Ochoa P. et al. // Cell Signal. — 1995. — Vol. 7, N 4. — P. 411–421.
5. Fouchier F., Baltz T., Rougon G. // Biochem. J. — 1990. — Vol. 269, N 2. — P. 321–327.
6. Fox J. A., Soliz N. M., Saltiel A. R. // Proc. natl. Acad. Sci. USA. — 1987. — Vol. 84, N 9. — P. 2663–2667.
7. Herman P. K., Stack J. H., Erm S. D. // TICB. — 1992. — Vol. 2. — P. 363–368.
8. Isakoff S. J., Taha C., Rose E. et al. // Proc. natl. Acad. Sci. USA. — 1995. — Vol. 92, N 22. — P. 10247–10251.
9. Kahn C. R., White M. F. // J. clin. Invest. — 1988. — Vol. 82, N 4. — P. 1151–1156.
10. Kanai F., Ito K., Todaka M. et al. // Biochem. biophys. Res. Commun. — 1993. — Vol. 195, N 2. — P. 762–768.
11. Maegawa H., Olefsky J. M., Thies S. et al. // J. biol. Chem. — 1988. — Vol. 263, N 25. — P. 12629–12637.

12. *Mato J. M., Kelly K. L., Abler A., Jarett L.* // J. biol. Chem. — 1987. — Vol. 262, N 5. — P. 2131—2137.
13. *Meier R., Alessi D. R., Cron P.* et al. // Ibid. — 1997. — Vol. 272, N 48. — P. 30491—30497.
14. *Misek D. E., Saltiel A. R.* // Ibid. — 1992. — Vol. 267, N 23. — P. 16266—16273.
15. *Misek D. E., Saltiel A. R.* // Endocrinology. — 1994. — Vol. 135, N 5. — P. 1869—1876.
16. *Morris J. C., Ping-Sheng L., Shen T. Y., Mensa-Wilmont K.* // J. biol. Chem. — 1995. — Vol. 270. — P. 2517—2524.
17. *Morris J. C., Ping-Sheng L., Zhai H. X.* et al. // Ibid. — 1996. — Vol. 271, N 26. — P. 15468—15477.
18. *Myers M. G. Jr., Backer J. M., Sun X. J.* et al. // Proc. natl. Acad. Sci. USA. — 1992. — Vol. 89, N 21. — P. 10350—10354.
19. *Quon M. J., Butte A. J., Zarnowski M. J.* et al. // J. biol. Chem. — 1994. — Vol. 269, N 45. — P. 27920—27924.
20. *Romero G., Luttrell L., Rogol A.* et al. // Science. — 1988. — Vol. 240, N 4851. — P. 509—511.
21. *Ruderman N. B., Kapeller R., White M. F., Cantley L. C.* // Proc. natl. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 87, N 4. — P. 1411—1415.
22. *Sakaue H., Hara K., Noguchi T.* et al. // J. biol. Chem. — 1995. — Vol. 270. — P. 11304—11309.
23. *Saltiel A. R., Cuatrecasas P.* // Proc. natl. Acad. Sci. USA. — 1986. — Vol. 83, N 16. — P. 5793—5797.
24. *Saltiel A. R., Fox J. A., Sherline P., Cuatrecasas P.* // Science. — 1986. — Vol. 233, N 4767. — P. 967—972.
25. *Saltiel A. R.* // Endocrinology. — 1987. — Vol. 120, N 3. — P. 967—972.
26. *Saltiel A. R., Cuatrecasas P.* // Amer. J. Physiol. — 1988. — Vol. 255, N 1. — Pt 1. — P. C1—C11.
27. *Sanchez-Gutierrez J. C., Sanchez-Arias J. A., Lechuga C. G.* et al. // Endocrinology. — 1994. — Vol. 134, N 4. — P. 1868—1873.
28. *Stieger S., Diem S., Jakob A., Brodbeck U.* // Eur. J. Biochem. — 1991. — Vol. 197, N 1. — P. 67—73.
29. *Su T. Z., Wang M., Syu L. J.* et al. // J. biol. Chem. — 1998. — Vol. 273, N 6. — P. 3173—3179.
30. *Sun X. J., Rothenberg P., Kahn C. R.* et al. // Nature. — 1991. — Vol. 352, N 6330. — P. 73—77.
31. *Wang L. M., Keegan A. D., Li W.* et al. // Proc. natl. Acad. Sci. USA. — 1993. — Vol. 90, N 9. — P. 4032—4036.
32. *White M. F., Kahn C. R.* // J. biol. Chem. — 1994. — Vol. 269, N 1. — P. 1—4.
33. *White M. F.* // Diabetologia. — 1997. — Vol. 40, Suppl. 2. — P. S2—S17.
34. *White M. F., Yenush L.* // Curr. Top. Microbiol. Immunol. — 1998. — Vol. 228. — P. 179—208.
35. *Wiese R. J., Mastick C. C., Lazar D. F., Saltiel A. R.* // J. biol. Chem. — 1995. — Vol. 270, N 7. — P. 3442—3446.

Поступила 14.05.98

◆ ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1999

УДК 616-092:612.017.1(048.8)

В. В. Фадеев, И. В. Шевченко, Г. А. Мельниченко

АУТОИММУННЫЕ ПОЛИГЛАНДУЛЯРНЫЕ СИНДРОМЫ

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

Аутоиммунные полиглангулярные синдромы (АПС) представляют собой первичное поражение аутоиммунным процессом 2 периферических эндокринных желез и более, приводящее, как правило, к их недостаточности, часто сочетающееся с различными органоспецифическими неэндокринными заболеваниями аутоиммунного генеза.

В настоящее время на основании клинических и иммуногенетических особенностей выделяют АПС 1-го и 2-го типов (АПС-1 и АПС-2). Ряд авторов рассматривают и АПС 3-го типа (АПС-3), однако выделение этого синдрома как самостоятельного признается не всеми.

По данным разных авторов, частота встречаемости отдельных заболеваний в рамках АПС значительно варьирует, что, вероятно, связано с различным числом наблюдений, а также со значительным временным интервалом между возникновением отдельных компонентов синдромов (табл. 1).

АПС-2 — наиболее распространенный, но менее изученный вариант АПС. Впервые этот синдром был описан М. Schmidt в 1926 г. как сочетание болезни Аддисона нетуберкулезной этиологии и АИТ [68]. Позже, в 1964 г., С. Carpenter сообщил о частом сочетании первичной хронической надпочечниковой недостаточности (1-ХНН) и АИТ

Таблица 1

Компоненты АПС (по данным разных авторов)

АПС-1		АПС-2	
заболевание	частота встречаемости, %	заболевание	частота встречаемости, %
Гипопаратиреоз	76—96	Надпочечниковая недостаточность	80—100
Слизисто-кожный кандидоз	17—100	АИТ/ДТЗ	69—97
Надпочечниковая недостаточность	72—100	ИЗСД	35—52
Первичный гипогонадизм	26—45	Витилиго	5—50
Алопеция	30	Первичный гипогонадизм	3,5—16
Мальабсорбция	23	Пернициозная анемия	16
Пернициозная анемия	14		
ХАГ	12		
Первичный гипотиреоз/ДТЗ	10		
Витилиго	4		
ИЗСД	2—5		

Примечание. АИТ — аутоиммунный тиреоидит; ДТЗ — диффузный токсический зоб; ИЗСД — инсулинзависимый сахарный диабет, ХАГ — хронический активный гепатит.