

А. Н. Подгребельный, О. М. Смирнова, И. И. Дедов

**РОЛЬ ФИБРОБЛАСТОВ В РАЗВИТИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ЕГО ОСЛОЖНЕНИЙ**

Отделение "Дебюта сахарного диабета" (зав. — проф. О. М. Смирнова) ГУ Эндокринологического научного центра (дир. — акад. РАН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Сахарный диабет типа 1 — метаболическое заболевание, развивающееся вследствие аутоиммунной деструкции  $\beta$ -клеток. На современном этапе принято различать 6 стадий в развитии заболевания [1, 2]: 1) генетическая предрасположенность, обусловленная наличием гаплотипов генов HLA-системы I, II и III классов, а также других генов, ассоциированных с сахарным диабетом типа 1; 2) воздействие различных факторов внешней среды, которые инициируют начало аутоиммунных процессов, приводя к развитию инсулита; 3) развитие иммунологических нарушений; 4) стадия выраженных иммунологических нарушений; 5) манифестация заболевания; 6) полная деструкция  $\beta$ -клеток.

Таким образом, в настоящее время сахарный диабет типа 1 рассматривается как классическое аутоиммунное заболевание [7].

**Фибробласты и антитела**

В фазе развития иммунологических нарушений, несмотря на то что в основе развития сахарного диабета типа 1 лежит органоспецифический ответ (выявляются аутоантитела к инсулину — IAA, к цитоплазме островковых клеток — ICA, к глутаматдекарбоксилазе — GAD, к тирозинфосфатазе островковых клеток — IA2 и IA2 $\beta$ ), наблюдается также поликлональная активация иммунной системы, сопровождающаяся образованием антител к клеткам и структурам, не имеющим прямого отношения к  $\beta$ -клеткам, — тироцитам, тиреоглобулину, тиреоидной пероксидазе, клеткам гипофиза, фибробластам, ретроокулярным мышцам, тубулину, актину и др. [8, 11]. Сходные иммунологические нарушения наблюдаются и при других аутоиммунных эндокринных заболеваниях, например при болезни Грейвса, при этом всегда отмечается наличие антител к фибробластам. Так, в частности, определены типы антител к фибробластам — IgA2 с мол. массой 54 и 66 кД, которые выявляются в высоком проценте случаев (до 26%) у больных с сахарным диабетом типа 1 и болезнью Грейвса [11]. Антигены, выявляемые при тиреоидассоциированной офтальмопатии, значительно выражены в глазных мышцах, других скелетных мышцах, щитовидной железе, менее выражены в поджелудочной железе, печени и легких и отсутствуют в почечных или орбитальных фибробластах. И соответственно комплементарные к ним антитела были определены у 54% пациентов с активной тиреоидассоциированной офтальмопатией, у 33% — с хронической офтальмопатией, у 36% — с гипертиреозом Грейвса, у 54% — с тиреоидитом Хашимото, у 23% — с сахарным диабетом типа 1 и у 11% здоровых лиц [23].

Также было обнаружено, что, помимо гипофиза, активированные лейкоциты и фибробласты могут синтезировать и выделять в межклеточное пространство пролактинподобные пептиды. Их повышенные концентрации обнаруживают при некоторых аутоиммунных заболеваниях: системной красной волчанке, адьювантном артрите, коллаген тип II-индуцированном артрите и сахарном диабете типа 1. Предполагается, что умеренная пролактинемия является фактором риска для развития аутоиммунитета [40].

Альтерация структуры и состава гликозаминогликанов (GAG) и протеогликанов может играть важную роль в развитии аутоиммунных болезней. Раздражение фибробластов приводит к избыточному синтезу коллагена и GAG и к возникновению аутоиммунного синдрома, аналогичного системной склеродермии. Кроме того, замечена более высокая почечная экскреция GAG у больных с аутоиммунным сахарным диабетом по сравнению со здоровыми лицами контрольной группы. Эти показатели коррелировали с продолжительностью болезни и развитием поздних диабетических осложнений [26]. Также распад GAG может привести к дегенерации внеклеточного матрикса и увеличению его проницаемости (что наблюдается при атеросклерозе). Разрушению GAG способствует уменьшение внутриклеточной концентрации аскорбиновой кислоты. Установлено, что гипергликемия и/или гипоинсулинемия ингибируют клеточный транспорт L-аскорбиновой кислоты, так как используют общую транспортную систему [21]. Таким образом, полисахариды GAG не только играют роль в патогенезе различных аутоиммунных болезней, но, возможно, могут служить маркером их активности.

Также высказывается предположение о взаимосвязи антител к фибробластам и ранним возникновением выраженных макро- и микрососудистых осложнений у больных сахарным диабетом. Обнаружена связь между антителами к фибробластам и антителами к поверхностному антигену островковых клеток и антигену Р 64—69 [8]. Определена положительная корреляционная связь между развитием поздних осложнений сахарного диабета типа 1 и наличием антител к фибробластам ( $r = 0,55$ ) [5].

Можно предположить, что параллельно с началом аутоиммунного поражения  $\beta$ -клеток возникает и поражение соединительной ткани, в частности фибробластов как наиболее распространенного элемента соединительной ткани, что само по себе может поддерживать дальнейшую гибель островков и развитие инсулита.

## Фибробласты, факторы роста и их функции

Многие дифференцированные клетки организма можно объединить в семейства, принадлежность к которым определяется происхождением и свойствами клеток. Важный пример — семейство соединительнотканых клеток (фибробласты, остеоциты, хондроциты, адипоциты и гладкомышечные клетки); члены его не только родственны, но и в необычной степени способны к взаимным превращениям. Фибробласты, по-видимому, наименее специализированные клетки в семействе соединительнотканых клеток.

В составе соединительной ткани они разбросаны по всему организму и функции их очень разнообразны. Способность этих клеток существовать и действовать в необычных условиях (например, при повреждении тканей) наряду с их "одиночным образом жизни" позволяет очень легко выращивать их в культуре, что делает их излюбленным объектом исследований клеточных биологов.

Фибробласты — это самые пластичные из соединительных клеток: они проявляют удивительную способность дифференцироваться в других представителей того же семейства. Есть веские данные в пользу того, что фибробласты в разных частях организма внутренне различны. Вполне возможно, что соединительная ткань содержит смесь различающихся линий фибробластов, одни из которых способны превращаться в хондроциты, другие — жировые клетки и т. д. Возможно также, что "зрелые" фибробласты, не способные к трансформации, существуют бок о бок с "незрелыми" (мезенхимными клетками), которые могут превращаться в зрелые клетки разного типа [6].

Фибробласты образуют внеклеточный матрикс — синтезируют коллаген (проколлаген), эластин, фибронектин, GAG, протеогликаны и другие компоненты экстрацеллюлярного матрикса. Они выполняют продукцию цитокинов — вырабатывают колонийстимулирующий фактор гранулоцитов и макрофагов (GM-CSF), колонийстимулирующий фактор гранулоцитов (G-CSF), колонийстимулирующий фактор макрофагов (M-CSF), интерлейкины 3 и 7 (IL-3, 7), участвуют в заживлении ран и воспалении — при заживлении ран и воспалении фибробласты активируются макрофагами, секретирующими основной фактор роста фибробластов (bFGF) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF). Фибробласты активно пролиферируют и мигрируют к месту повреждения, связываясь с фибриллярными структурами через фибронектин. Одновременно они активно синтезируют вещества экстрацеллюлярного матрикса. Фибробласты содержат коллагеназы — ферменты, разрушающие коллаген. Разрушая коллаген и синтезируя новый, фибробласт способствует его перестройке и образованию соединительной ткани в месте повреждения/воспаления [3].

Для роста клеток как *in vitro*, так и *in vivo* необходимы факторы роста — высокоспецифичные белки, присутствующие в крови в очень малых концентрациях. Клеткам разного типа необходимы разные факторы роста. Поскольку факторы роста секретируются в малых количествах, их трудно вы-

делять. Эта трудность усугубляется сложностью их действия, так как большинство типов клеток, видимо, реагирует на специфическую комбинацию факторов роста, а не на какой-то один специфический фактор. Хотя до сих пор было охарактеризовано сравнительно немного различных факторов роста (меньше 30), многие из них повторно находили в других условиях и давали им другие названия — только позднее выяснилось, что это были уже известные молекулы. Из этого, возможно, следует, что имеется лишь небольшое число факторов роста, которые, действуя в разных комбинациях, избирательно регулируют каждый из многочисленных типов клеток; становится ясно, что те же самые факторы действуют в определенных условиях как регуляторы других процессов, особенно процессов клеточной дифференцировки [6].

Применительно к рассматриваемым нами фибробластам и их участию в развитии пролиферативных осложнений в первую очередь вызывает интерес фактор роста фибробластов (FGF).

Различают 2 типа FGF — основной (bFGF) и кислый (aFGF), различающиеся количеством аминокислот в своей структуре (55% гомологии). FGF содержится во многих органах и тканях: головном мозге, сетчатке, почках, гипофизе, надпочечниках, желтом теле яичников, макрофагах и моноцитах, в костной и хрящевой тканях — в тех органах, которые обильно васкуляризированы. Это указывает на то, что макрофаги, эндотелиальные клетки сосудов, фибробласты и миофибробласты активно синтезируют FGF. bFGF — потенциальный митоген, фактор дифференцировки и фенотипической трансформации различных типов клеток, производных мезодермы и нейроэктодермы, в том числе фибробластов, миобластов, эндотелиальных клеток; он также активирует ангиогенез, повышает синтетическую функцию фибробластов и миобластов, в то время как aFGF в основном стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток, действуя через аутокринные механизмы. bFGF может повышать концентрацию пролактина и снижать базальный уровень гормона роста. bFGF, который был определен в макрофагах, может играть критическую роль в процессах заживления раневого дефекта. На активность FGF влияют различные факторы. Один из таких факторов — гепарин, он активирует митогенную активность FGF. Протамина сульфат является ингибитором ангиогенеза, снижая свойства FGF стимулировать пролиферацию эндотелиальных клеток сосудов. Протамина сульфат ингибирует митогенный эффект обоих факторов, предотвращая их взаимодействие с клеточными рецепторами. Трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), который усиливает или подавляет (в зависимости от типа клетки) реакцию большинства клеток на другие ростовые факторы, регулирует дифференцировку некоторых клеток, модулирует активность bFGF [13]. Есть данные, которые показывают, что TGF- $\beta$  вызывает инкорпорацию белка фибриллина в экстрацеллюлярный матрикс, активируя миофибробласты [30]. Было показано, что высокие концентрации глюкозы и инсулина стимулируют экспрессию коллагена типа I перитонеальными фибробластами в культуре, причем клет-



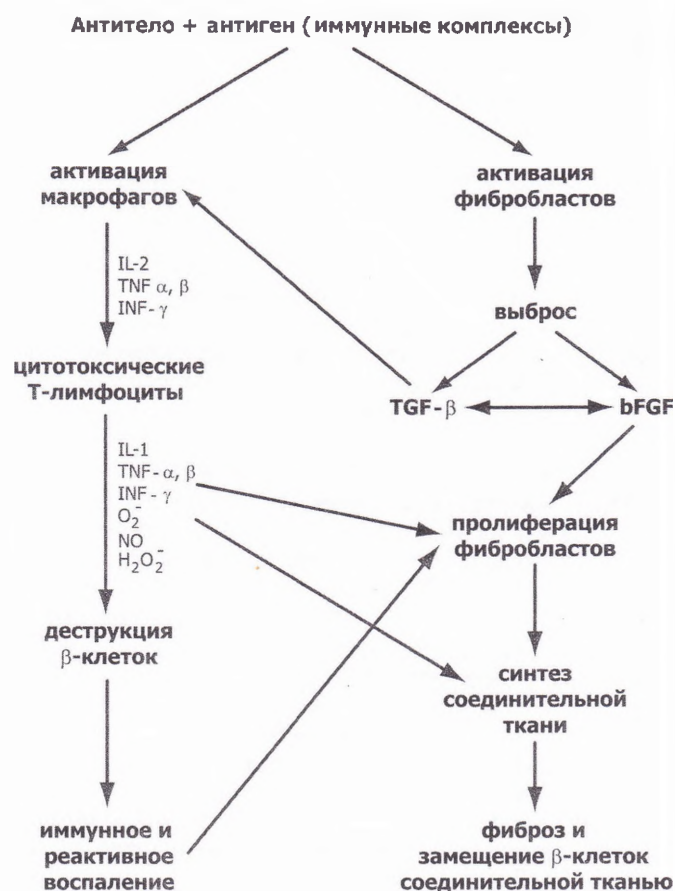


Рис. 1. Принципиальная схема развития инсулита.

ки от пациентов с сахарным диабетом более чувствительны к этому эффекту инсулина. Потенциальным медиатором для этого эффекта может выступать TGF-β [31, 49].

В последнее время в течение развития, созревания и старения клеток придают значение экстрацеллюлярному матриксу. Самая важная биологическая роль экстрацеллюлярного матрикса — интеграция клеток в тканях, тканей в органах и органов в целом организме. Экстрацеллюлярный матрикс может непосредственно влиять на функции клетки через контакт между экстрацеллюлярным матриксом и геномом, опосредованным структурными гликопротеидами (фибронектином, ламинином, эластинеином и т. д.), взаимодействуя с другими макромолекулами экстрацеллюлярного матрикса (коллагеном, протеогликанами, эластином) и цитоскелет-трансмембранными рецепторами (интегринами). Болезни, наиболее связанные со старением (атеросклероз, сахарный диабет и злокачественные опухоли), показывают отклонение (качественное или количественное) от нормальной программы биосинтеза экстрацеллюлярного матрикса. Деградация упругих волокон, вызванная клеточными ферментами типа эластазы, наблюдается при атеросклерозе. Несколько таких ферментов было выделено из тромбоцитов, фибробластов, гладкомышечных клеток и липопротеинов. Биосинтез некоторых из них увеличивается с возрастом и облегчает перемещение клеток внутри экстрацеллюлярного матрикса. Уровень плазменного фибронектина

увеличивается с возрастом по экспоненте. Это увеличение отсутствует или уменьшено при диабете. Уровень фибронектина ткани увеличивается при диабете [35].

Столь подробное описание роли фибробластов и факторов роста необходимо нам для понимания их роли в развитии как самого сахарного диабета, так и его осложнений.

### Фибробласты и инсулит

При морфологическом исследовании островкового аппарата на разных стадиях/этапах альтерации выявлена аутоиммунная деструкция β-клеток и реактивная воспалительная реакция — инсулит. В реализации этого процесса важную роль играют макрофаги, Т-хелперы, цитотоксические Т-лимфоциты, НК-клетки.

В качестве первичного антигена рассматривают вирусный агент, обсуждается роль химических веществ, пищевых факторов или же белков, представленных на поверхности β-клеток (инсулин, проинсулин). Презентируемый макрофагами антиген распознается Т-хелперами, далее идет запуск каскада типичных иммунных реакций. Помимо прямого цитолитического действия, цитотоксические Т-лимфоциты и другие иммунокомпетентные клетки, находящиеся в островках Лангерганса, продуцируют значительное количество цитокинов, в первую очередь интерферона-γ (INF-γ). Под действием этого цитокина β-клетки начинают экспрессировать на своей поверхности белки HLA класса II. Данный комплекс является мощным стимулом для развития новой волны иммунологических реакций, направленных на уничтожение β-клеток. Таким образом, помимо прямого цитолитического действия Т-лимфоцитов, в процесс вовлекаются хелперно-индукторные клетки, В-лимфоциты, НК-клетки, элементы комплемента, которые путем активации перекисного окисления, цитокинов приводят к гибели всех β-клеток, фиброзу и склерозу поджелудочной железы [4, 12].

Было показано, что и фибробласты играют в этом не последнюю роль. Ультраструктурные исследования поджелудочной железы мышей NOD подтверждают, что паренхиме островков Лангерганса замещается инфильтративными элементами, фибробластами и соединительной тканью. Эти изменения сопоставимы с воспалительной инфильтрацией (инсулитом); эти процессы очень сходны, хотя инсулит начинается немного раньше, чем инфильтрация островков [42]. Также выявляются хроническая инфильтрация и фибропластическое воспаление. При этом внутрипанкреатические кровеносные сосуды дилатированы, отмечаются периваскулярный фиброз и геморрагическая инфильтрация, сами сосуды содержат много лейкоцитов [24].

Вероятный механизм участия фибробластов в инсулите заключается в параллельной активации макрофагов и фибробластов иммунными комплексами. При этом происходит увеличение концентрации FGF и TGF-β, что способствует дополнительной активации макрофагов и фибробластов, вызывая пролиферацию фибробластов и активацию их

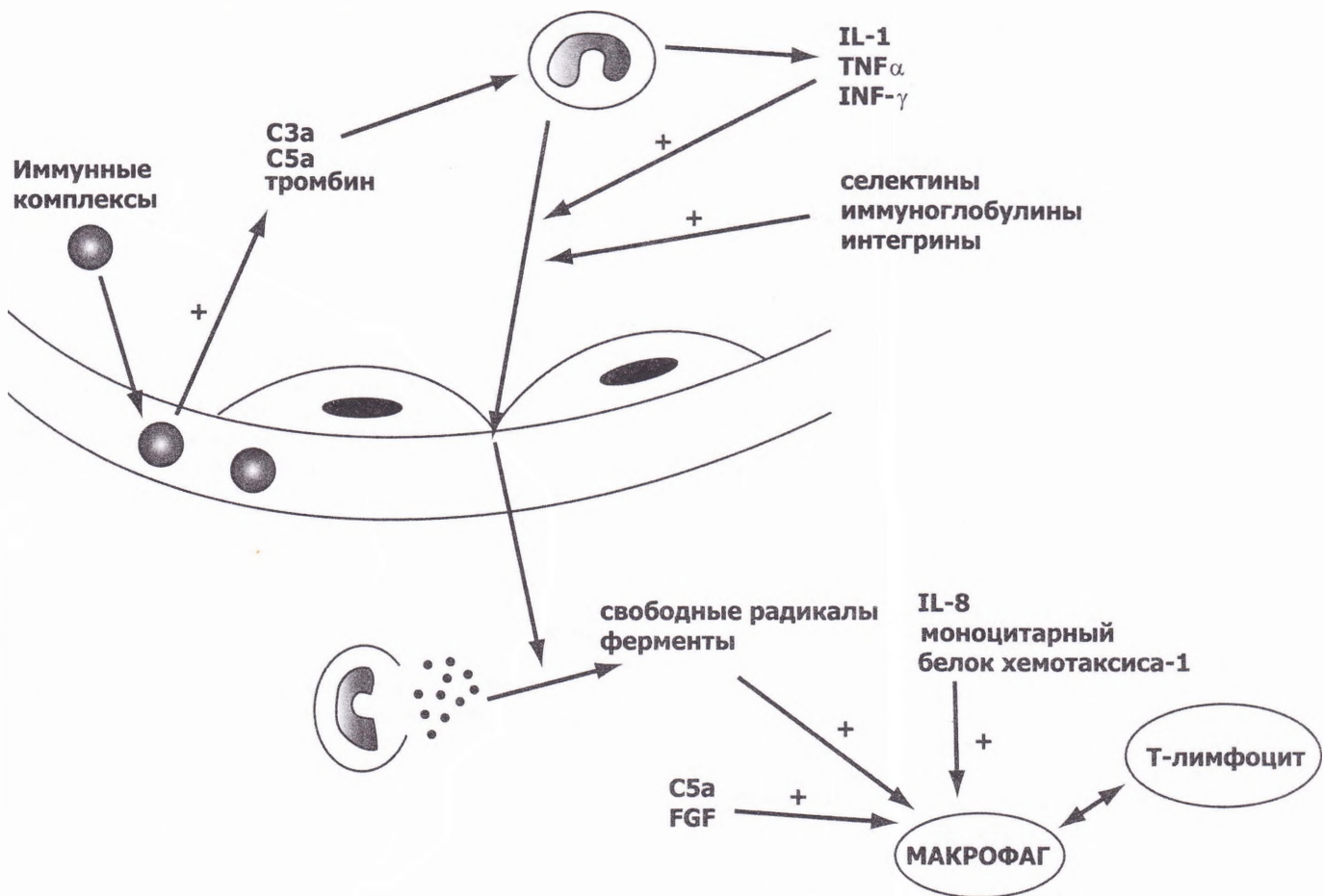


Рис. 2. Принципиальная схема развития васкулита (по П. В. Юшкову).

C3a, C5a — белки системы комплемента.

синтетической функции, что приводит к усиленному синтезу соединительной ткани и замещению  $\beta$ -клеток (рис. 1). В подтверждение этого можно привести данные о том, что, например, IL-1 $\beta$  значительно стимулирует синтез ДНК в фибробластах и продукцию фибронектина, коллагена типа I, TGF- $\beta$  и NO. Стимуляция фиброза и пролиферативное действие IL-1 $\beta$  на фибробласты не включают активацию протеинкиназы C или продукцию NO, но по крайней мере частично зависят от TGF- $\beta$  [55].

Возможно, что процессы при инсулите сходны в своих конечных этапах и с механизмом развития васкулита при диабетической микроангиопатии — и в том и в другом случае возможно участие FGF наряду с другими факторами в активации макрофагов и запуске соответствующих иммунных реакций [9] (рис. 2).

При неспецифическом/неиммунном воспалении соединительной ткани в различных органах и системах также выявляют активацию фибробластов и антитела к ним. В одном из исследований были определены *in vitro* экспрессия GAD65 мРНК в культурах десневых, периодонтальных и кожных фибробластов у пациентов, не больных сахарным диабетом, с периодонтальным воспалением и соответственно диагностически значимое увеличение титра антител GAD65 в сыворотке крови этих пациентов [32]. Множество исследований характери-

зуют GAD-антиген как важнейший в патогенезе сахарного диабета типа 1. Считается, что диагностическая ценность GAD65 составляет 80%. Антитела к GAD находят у больных с длительным стажем сахарного диабета типа 1, осложненного явлениями автономной и периферической нейропатии. Также в эксперименте было показано, что GAD при различных путях введения в одних случаях провоцировали развитие диабета, в других — предотвращали, что подразумевало развитие механизма десенсибилизации антигеном [7]. Таким образом, повышение титра аутоантител к GAD у здоровых лиц и пациентов с сахарным диабетом не всегда может служить специфическим маркером развития воспаления, характерного только для инсулита.

#### Фибробласты и гипергликемия

Гипергликемия — мощный "раздражающий" фактор, который существенно влияет на все виды обмена в организме, являясь основной причиной развития осложнений при сахарном диабете. В то же время патофизиологические пути, через которые действует гипергликемия, весьма разнообразны: активация альдозоредуктазного пути (полиоловый шунт); ускоренное гликирование с образованием конечных продуктов гликирования (AGE's);



активация протеинкиназы C; окислительный стресс; гликозилирование FGF и активации/деактивации его эффектов; прямая активация фибробластов [7]. На функции клеток влияют и вторичные посредники, в основном это белки, подвергшиеся воздействию различных продуктов окислительных реакций. Было показано, что активность таким образом модифицированных белков не меньше, чем самих окислительных соединений [48]. Естественно, активация фибробластов носит неспецифический характер, что приводит к запуску естественных функций фибробластов (пролиферация, разрушение коллагена и синтез нового, что способствует перестройке соединительного матрикса с образованием фиброза). Это приводит к ретинопатии, полинейропатии и атеросклерозу сосудов.

Формирование AGE's считают потенциальной связью между гипергликемией и хроническими диабетическими осложнениями, включая нарушения в передаче сигналов клетки. Вероятно, что AGE's изменяют передачу сигналов клетки, блокируя рецепторы факторов роста, в частности эпидермального фактора роста (EGF) [45].

AGE's вовлечены как один из основных факторов в диабетический фиброз ткани. CTGF является мощным индуктором внеклеточного матричного синтеза и ангиогенеза (профиброзное и проангиогенное действие). Его содержание увеличено в тканях животных — моделей диабета. Было обнаружено, что AGE's регулирует белок CTGF, который может иметь значение в развитии диабетических осложнений [53, 54].

В то же время внутриклеточные сахара (фруктоза, глюкозо-6-фосфат, глицеральдегид-3-фосфат и др.) являются более активными агентами гликозилирования, чем глюкоза. *In vitro* неферментное гликирование bFGF фруктозой, глюкозо-6-фосфатом или глицеральдегид-3-фосфатом уменьшило аффинитет к гепарину рекомбинантного bFGF на 73, 77 и 89% соответственно. Митогенная активность была уменьшена на 40, 50 и 90%. Иммуноблоттинг показал, что глюкоза в концентрации 30 ммоль/л не уменьшала содержание подающего обнаружению bFGF, если отмеченное уменьшение митогенной активности следовало в посттрансляционной модификации bFGF, вызванной повышенной концентрацией глюкозы. Эти данные подтверждают гипотезу о том, что неферментативное гликозилирование внутриклеточного белка изменяет сосудистую функцию клетки [22].

Патофизиологический путь биосинтеза гексозаминов действует как клеточный датчик глюкозы и участвует во многих неблагоприятных эффектах глюкозы. Усиление этого пути приводит к развитию устойчивости к инсулину в крысиных фибробластах и сверхрегуляции активности транскрипции TGF- $\beta$  в клетках крысиной почки. Первая реакция этого пути — синтез глюкозаминов — лимитирует скорость остальных реакций, и в роли катализатора этой реакции выступает глутамин:фруктозо-6-фосфат-аминотрансфераза (GFA). Каталитические свойства GFA регулируются высоким уровнем глюкозы, TGF- $\beta$  и инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF-1). Низкоуровневая регуляция этого клеточного датчика глюкозы может

быть защитным механизмом против неблагоприятных эффектов гипергликемии при диабете [16].

Расширенное окисление, высокий уровень холестерина и липополипротеинов низкой плотности (LDL) коррелируют с токсичностью *in vitro* этих фракций на пролиферацию фибробластов [17].

### Фибробласты и инсулинорезистентность

Все вышесказанное в основном касалось сахарного диабета типа 1, в развитии которого основную роль играют аутоиммунные процессы, однако имеются данные и о роли фибробластов в развитии инсулинорезистентности, т. е. о возможном их участии в течении сахарного диабета типа 2.

Glut-1 — транспортер глюкозы эритроцита, который участвует в транспорте глюкозы через эпителиальные и эндотелиальные ткани. Было обнаружено первичное нарушение в транспорте глюкозы и содержании Glut-1 на поверхности клетки в фибробластах от пациентов с сахарным диабетом типа 2, страдающих ожирением. Исследования выявили экспрессию Glut-1 у больных сахарным диабетом в участках липоидного некробиоза, что, возможно, способствует устойчивости к инсулину в этих тканях [28]. В связи с этим возникает вопрос, вносят ли отклонения в транспорте глюкозы фибробластами у пациентов с липоидным некробиозом вклад в гистопатологические изменения и в развитие инсулинорезистентности.

Фибробласты от пациентов с липоатрофическим диабетом имеют дефекты в тирозинкиназной активности инсулинового и IGF-1-рецепторов, которые вызывают устойчивость к инсулину *in vitro* и могли быть связаны с устойчивостью гормона *in vivo*, которая встречается у таких пациентов [38]. Эти дефекты могут быть связаны, например, с синтезом фибробластами определенного гликопротеида — ингибитора тирозинкиназы инсулинового рецептора [50].

Известно, что продукция фактора некроза опухоли  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) адипоцитами участвует в развитии инсулинорезистентности. Опубликованы результаты, предполагающие, что фактор ингибирования миграции макрофагов (MIF) играет важную роль в этом механизме через регулирование экспрессии TNF $\alpha$  [27].

Установлено, что адипоциты секретируют сигнальную молекулу — резистин. Циркуляция уровня резистина была уменьшена при лечении розиглитазоном и увеличена при алиментарной и генетических формах ожирения. Воздействие антител к резистину улучшает уровень гликемии крови и действие инсулина у мышей с алиментарным ожирением. Кроме того, введение нормальным мышам рекомбинантного резистина ухудшает транспорт глюкозы и действие инсулина. Стимулируемое инсулином поглощение глюкозы адипоцитами увеличено при нейтрализации резистина и уменьшено при введении резистина. Таким образом, резистин потенциально связывает ожирение с диабетом типа 2 и инсулинорезистентностью [52].

Также отмечено, что гормон роста является главным фактором сыворотки, запускающим дифференцировку жировой клетки из фибробласта.

Получены данные о том, что этот гормон стимулирует дифференцировку не только жировых клеток, но и хондроцитов. Это действие выявляется как *in vitro*, так и *in vivo*. Однако гормон роста — не единственная секретируемая сигнальная молекула, регулирующая развитие жировых клеток. Предшественники жировых клеток, стимулированные гормоном роста, становятся чувствительными к IGF-1, который побуждает дифференцирующие жировые клетки к пролиферации [6].

### Фибробласты и осложнения сахарного диабета

Осложнения при сахарном диабете делятся в зависимости от размеров пораженных сосудов на микроангиопатию (поражение сосудов мелкого калибра — капилляров, артериол и венул) и макроангиопатию (поражение сосудов среднего и крупного калибра). Микроангиопатии (ретино- и нефропатии) имеют специфическую клиническую и морфологическую картину, развиваются только при сахарном диабете. В отличие от них макроангиопатии не носят специфического для сахарного диабета характера. Морфологическим субстратом макроангиопатии является атеросклеротическое поражение сосудов, а микроангиопатий — фиброз и другие проявления пролиферативного процесса.

Патогенез макрососудистой патологии при сахарном диабете не полностью ясен. В пределах различных патологических механизмов патологический рост сосудистых клеток установлен как основная часть ангиопатии. Есть различные группы сосудистых факторов роста, которые имеют потенциальную возможность для развития макрососудистой патологии при диабете: гормоны, локально действующие факторы роста, выделяемые тромбоцитами и эндотелиальными клетками. Среди гормонов, уровни которых в крови увеличиваются при различных диабетических процессах, рассматривают соматотропин, IGF-1 и инсулин. Человеческие тромбоциты содержат по крайней мере 8 факторов роста или белков, которые стимулируют *in vitro* рост клеток артериальной стенки: PDGF, EGF, FGF, TGF- $\beta$ , эндотелиальный фактор роста, фактор роста диабетической сыворотки, сосудистый фактор пролиферации эндотелиальной клетки и тромбоцитарный митоген эндотелиальной клетки. Тромбоциты от пациентов с сахарным диабетом типов 1 и 2 отвечают усиленным выбросом факторов роста в ответ на стимуляцию. Эта увеличенная активность возвращается к нормальному уровню при обоих типах диабета после строгого метаболического контроля. Эндотелиальные и гладкомышечные клетки сосудистой стенки, фибробласты и моноциты/макрофаги различных разновидностей синтезируют, по крайней мере в культуре, разнообразные факторы роста, которые могли участвовать в аутокринном или паракринном регулировании роста артериальной стенки [33]. Диабет может воздействовать на освобождение этих факторов, но в какой степени это вносит вклад в развитие макрососудистой патологии, на данный момент неизвестно.

**Макроангиопатия (атеросклероз).** Атеросклеротическая бляшка состоит из обогащенного липида-

ми ядра, расположенного в центральной области эксцентрически утолщенной интимы. Липидное ядро обычно содержит макрофагальные пенистые клетки, возникшие из моноцитов, фибробласты и гладкомышечные клетки. Бляшка окружена фиброзной капсулой, которая определяет ее стабильность. Эта фиброзная оболочка состоит из плотного экстрацеллюлярного матрикса, сформированного из интерстициального коллагена и эластина. Синтез фибробластами экстрацеллюлярного матрикса регулируется различными цитокинами и ростовыми факторами, среди которых основными являются TGF- $\beta$  и INF- $\gamma$  [4]. Например, CTGF, секретируемый эндотелиальными клетками и фибробластами при их стимуляции, что имеет место при развитии атеросклеротической бляшки, преобразовывает TGF- $\beta$ , и его концентрация резко увеличена при развитии фиброзных процессов в коронарных артериях и в коже [47].

Обнаружено, что модифицированные липопротеины, особенно различные формы окисленных LDL (ox-LDL), проявляли гуморальные иммунные ответы у подопытных животных и людей. При диабете гликозилирование и окислительные процессы сосуществуют и ведут к формированию продуктов гликозилирования. Ox-LDL были обнаружены в атероматозных бляшках, anti-ox-LDL-антитела — в крови и атероматозных бляшках; иммунные комплексы, взаимодействующие с LDL, и anti-LDL (LDL-иммунные комплексы) были выделены из сыворотки пациентов с проявлениями атеросклероза. Кроме того, *in vitro* образованные LDL-иммунные комплексы и иммунные комплексы, выделенные от пациентов, вызвали внутриклеточное накопление холестерина и сложных эфиров в макрофагах и фибробластах [36, 37, 44]. Неферментное гликозилирование уменьшает способность липополипротеинов высокой плотности снижать содержание внутриклеточного холестерина [18–20]. Таким образом, гуморальный аутоиммунитет и гипергликемия могут играть значительную роль в патогенезе атеросклероза при сахарном диабете, и в формировании ядра бляшки участвуют не только макрофаги, но и фибробласты.

Фибробласты, выращиваемые в питательной среде с высокой концентрацией глюкозы, переносят большие, опосредованные АТФ морфологические изменения, усиленный апоптоз, активацию caspase-3 и выработку IL-6. Был идентифицирован белок P2X7 как основной рецептор, вовлеченный в эти реакции. Кроме того, гипергликемия вызывала блок P2X7. Учитывая, что АТФ часто высвобождается во внеклеточную среду при повреждении клеток и тканей в результате секреторного экзоцитоза или активации транспортеров плазматической мембраны, выдвинута гипотеза о том, что рецепторы АТФ участвуют в патогенезе макрососудистых осложнений диабета [51].

**Микроангиопатия (ретинопатия).** При анализе клеточных компонентов пролиферативных витреоретинальных мембран при пролиферативной диабетической ретинопатии (PDR) и пролиферативной витреоретинопатии (PVR) выявлено, что пигментные эпителиальные клетки и фибробласты яв-



ляются главными компонентами PVR мембран, а мезенхимальные клетки — PDR мембран [34].

Пролиферация эпиретинальной ткани, встречающаяся при ишемических микроангиопатиях или преретинальных заболеваниях, достаточно сильная, чтобы вызвать отслойку сетчатки тракционными механизмами. Клеточная миграция, пролиферация и, наконец, сокращение являются мощными патогенными элементами. В этом важную роль отводят миофибробластам — констриктивным клеткам, являющимся промежуточным звеном между фибробластами и гладкомышечными клетками. Формирование шрамоподобных эпиретинальных мембран (ERM's) составляет потенциально конечную стадию развития PVR и PDR. Накопление миофибробластов — ключевой момент в ERM-связанной тракционной отслойке сетчатки, встречающейся в течение PVR и PDR. Они рассеяны всюду по мембране и, вероятно, обуславливают ее сокращающиеся свойства [46]. Современные данные позволяют предположить, что наличие активноположительных миофибробластов, вероятно, зависит от сопутствующей экспрессии трансформирующего фактора роста 1 (TGF-1), TGF- $\beta$ RII и ED-A фибронектина [15].

В то же время bFGF был предложен в качестве основного агента в пролиферативной диабетической ретинопатии и других процессах неоваскуляризации. Так, при инкубации неоваскулярных ветвей с экзогенным bFGF выявлено многократное увеличение гепарансульфатпротеингликозаминогликан — связанных эпитопов для bFGF [25]. Этот фактор роста был обнаружен практически у всех пациентов как с PDR, так и с PVR. Вместе с соответствующим рецептором bFGF может играть роль в ауто- и паракринном контроле пролиферативных процессов на витреоретинальной поверхности [29].

**Нефропатия.** Накопление мезангиального матрикса наряду с артериальной гипертензией и дислипидемией — центральный аспект в патофизиологии диабетической нефропатии [56]. Молекулярные триггеры этого еще не определены. Выявлено 15 генов, дифференцированно активирующихся, когда первичные человеческие мезангиальные клетки были подвергнуты гипергликемии (30 ммоль/л). Эти гены включают в себя известные регуляторы активности мезангиальных клеток при сахарном диабете (фибронектин, caldesmon, thrombospondin и ингибитор активатора плазминогена 1), новые гены и известные гены, об индукции которых гипергликемией не сообщалось. Важными среди последних были гены кодирования белков, связанных с синтезом цитоскелета (CTGF) и "модулятора продукции матрикса фибробластами". В параллельных экспериментах повышенные CTGF уровни мРНК были продемонстрированы в клубочках крыс с вызванной стрептозотоцином диабетической нефропатией. Маннитол вызвал меньшую экспрессию CTGF мезангиальными клетками *in vitro*, чем гипергликемия, исключая гиперосмолальность как ключевой стимул. Гипергликемия стимулировала экспрессию TGF- $\beta$ , дополнительно экспрессию TGF- $\beta$  мезангиальными клетками за-

пускал CTGF [39, 47]. Эти данные показывают, что гипергликемия стимулирует мезангиальную экспрессию CTGF TGF- $\beta$ -протеинкиназа C-зависимыми путями, и CTGF может быть медиатором TGF- $\beta$ -управляемой продукции мезангиального матрикса при сахарном диабете.

В исследованиях *in vivo* было продемонстрировано, что экспрессия CTGF при сахарном диабете была увеличена в 28 раз приблизительно через 3,5 мес течения диабета. Эти изменения произошли в ходе диабетической нефропатии рано, когда мезангиальная экспансия была умеренна, а коллагеноз и протеинурия отсутствовали. В основном снижение роста CTGF мРНК (двукратное), наблюдаемое в целой почке, показывает, что первичная альтерация экспрессии CTGF была в клубочках. Эти результаты предполагают, что сверхрегуляция CTGF — важный фактор в патогенезе продукции мезангиального матрикса и прогрессивного гломерулосклероза [47].

Обнаружено, что CTGF является гипертрофическим фактором для мезангиальных клеток. CTGF стимулирует их переход из фазы G0 в фазу активности G1. Результаты исследований также указывают на то, что гипертрофия мезангиальных клеток, вызванная TGF- $\beta$ , CTGF-зависимая. Гипертрофия мезангиальных клеток — одно из самых ранних отклонений диабетической нефропатии; поэтому терапевтическое влияние на CTGF может быть полезно в контроле диабетической нефропатии [10].

При исследовании роли миофибробластов в прогрессировании внутритканевого фиброза и атеросклероза была обнаружена значительная корреляция между миофибробластами и протеинурией, уровнем креатинина и коллагеном III. Выраженность атеросклероза коррелировала с коллагеном III, скоростью клубочковой фильтрации и уровнем креатинина. Однако не выявлено корреляции между миофибробластами и выраженностью атеросклероза [43]. Эти данные позволяют предположить значительную роль миофибробластов в прогрессии диабетической нефропатии. Ишемия, вторичная к артериосклерозу, может внести вклад в интерстициальный фиброз через модуляцию фибробластов в миофибробласты.

**Диабетические язвы.** Сахарный диабет — системная болезнь, оказывающая неблагоприятное влияние на заживление ран. Некомпенсированный диабет негативно воздействует на хирургическое заживление раны и часто связывается с патологической пролиферацией фибробластов, чрезмерного ангиогенеза и слабой регенерации кости.

Установлено, что фибробласты, показывающие самое большое увеличение роста в ответ на гипергликемию, также вызвали увеличенную экспрессию bFGF. Эти данные предполагают, что bFGF играет важную роль в патологическом заживлении раны у лиц с некомпенсированным диабетом [41]. Также несостоятельность экспрессии IGF-I в пределах основного слоя и фибробластов может внести вклад в замедление заживления раны при сахарном диабете [14].

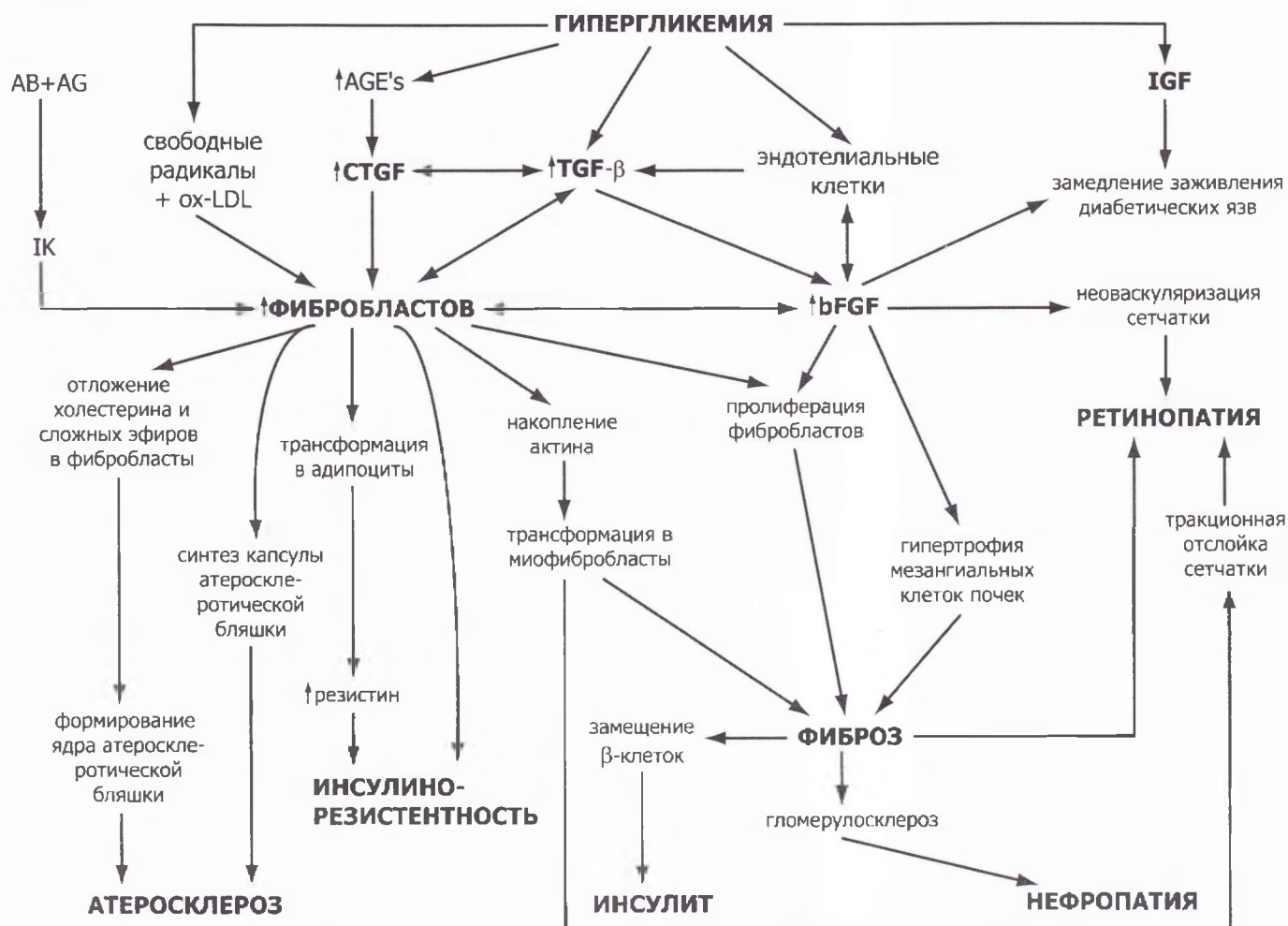


Рис. 3. Общая схема участия фибробластов в патологических процессах при гипергликемии.

*AB* — антитела; *AG* — антигены; *IK* — иммунные комплексы.

## Заключение

Учитывая все вышесказанное, можно утверждать, что фибробласты играют важную роль в развитии как самого сахарного диабета, так и сосудистых осложнений.

При сахарном диабете основным повреждающим фактором является гипергликемия, которая сама и посредством активации факторов роста (CTGF, bFGF, TGF- $\beta$ ) изменяет функции фибробластов: фибробласты начинают продуцировать во внеклеточную среду факторы роста (bFGF, TGF- $\beta$ ), поддерживая тем самым патологический процесс. Фибробласты трансформируются в адипоциты и миофибробласты; происходит пролиферация фибробластов с активацией их синтетической функции: синтез коллагена (проколлагена), эластина, фибронектина, GAG, протеогликанов и других компонентов экстрацеллюлярного матрикса. В фибробласты откладываются холестерин и сложные эфиры.

Все это вызывает различные осложнения: формирование ядра и капсулы атеросклеротической бляшки — развитие атеросклероза, трансформация в адипоциты и синтез ими резистина, а также изменение тирозинкиназной активности инсулино-

вых рецепторов и активности Glut-1 на мембранах фибробластов ведут к инсулинорезистентности; выброс bFGF вызывает неоваскуляризацию сетчатки, что наряду с образованием миофибробластов способствует развитию диабетической ретинопатии; пролиферация фибробластов и повышение концентрации bFGF ведут к гиперсинтезу компонентов экстрацеллюлярного матрикса и соответственно к фиброзу — в почках это проявляется гломерулосклерозом (диабетической нефропатией), а в поджелудочной железе — замещением  $\beta$ -клеток в процессе развития инсулита.

В роли маркеров развития и тяжести осложнений могут выступать антитела к фибробластам (IgA2-54, IgA2-66, GAD65), факторы их роста (bFGF, TGF- $\beta$ ), изменения в структуре экстрацеллюлярного матрикса (изменение концентрации фибронектина, эластина, GAG).

Общие механизмы участия фибробластов в развитии сахарного диабета представлены на рис. 3.

Таким образом, можно сделать заключение о том, что, несмотря на то что доказано участие процессов, повреждающих фибробласты, в патогенезе как самого сахарного диабета, так и сосудистых осложнений, их роль во многом остается неясной.



По-прежнему актуальными являются изучение и поиск информативных маркеров развития сосудистых осложнений и разработка алгоритмов диагностики и лечения. В связи с этим может оказаться важной оценка степени повреждения фибробластов и их функций.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Балаболкин М. И. Диабетология. — М., 2000.
2. Гетерогенность сахарного диабета / Смирнова О. М., Горелышева В. А., Никонова Т. В., Соловьева О. Е. — М., 2001. — С. 18—20; 25.
3. Гистология / Под ред. Э. Г. Улюмбекова, Ю. А. Челышева. — М., 1997. — С. 231—233.
4. Дедов И. И., Шестакова М. В. Сахарный диабет. — М., 2003. — С. 98—99.
5. Кеда Ю. М., Крюкова И. В., Смирнова О. М. и др. // Вестн. РАМН. — 1994. — № 12. — С. 33—39.
6. Молекулярная биология клетки / Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. — М., 1994. — Т. 2. — С. 182—183; 417—420; Т. 3. — С. 75; 167; 193—196.
7. Один В. И. Аутоиммунный сахарный диабет. — СПб., 2003. — С. 42—44; 55—64.
8. Смирнова О. М., Чугунова Л. А., Злобина Е. Н. и др. // Клин. эндокринолог. — 1993. — Т. 39, № 3. — С. 4—5.
9. Юшков П. В., Опаленков К. В. // Сахарный диабет. — 2001. — № 1. — С. 53—56.
10. Abdel-Wahab N., Weston B. S., Roberts T., Mason R. M. // J. Am. Soc. Nephrol. — 2002. — Vol. 13, N 10. — P. 2437—2445.
11. Arnold K., Metcalfe R., Weetman A. P. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1995. — Vol. 80, N 12. — P. 3430—3437.
12. Atlas of Diabetes / C. Ronald Kahn. — London, 2000. — P. 49—57.
13. Biology of Growth Factors. — New York; London, 1988. — P. 23—39.
14. Blakytyn R., Jude E. B., Martin Gibson J. et al. // J. Pathol. — 2000. — Vol. 190, N 5. — P. 589—594.
15. Bochaton-Piallat M. L., Kapetanios A. D., Donati G. et al. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. — 2000. — Vol. 41, N 8. — P. 2336—2342.
16. Crook E. D., Simmons S. T., Daniels M., Singh L. P. // J. Invest. Med. — 2000. — Vol. 48, N 6. — P. 427—434.
17. Diane W. M., Guy M. C. // J. Lipid Res. — 1989. — Vol. 30. — P. 1827—1834.
18. Duell P. B., Oram J. F., Bierman E. L. // Diabetes. — 1990. — Vol. 39, N 10. — P. 1257—1263.
19. Duell P. B., Oram J. F., Bierman E. L. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40, N 3. — P. 377—384.
20. Duell P. B., Bierman E. L. // Acta Diabetol. — 1991. — Vol. 28, N 4. — P. 174—178.
21. Fay M. J., Bush M. J., Verlangieri A. J. // Life Sci. — 1990. — Vol. 46, N 9. — P. 619—624.
22. Giardino I., Edelstein D., Brownlee M. // J. Clin. Invest. — 1994. — Vol. 94, N 1. — P. 110—117.
23. Gunji K., De Bellis A., Wu Li A. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2000. — Vol. 85. — P. 1641—1647.
24. Hahn von Dorsche H., Schwesinger G., Fischer U. et al. // Acta Histochem. — 1982. — Vol. 71, N 1. — P. 119—132.
25. Hanneken A., de Juan E. Jr., Luty G. et al. // Arch. Ophthalmol. — 1991. — Vol. 109, N 7. — P. 1005—1011.
26. Hansen C., Otto E., Kuhlemann K. et al. // Clin. Exp. Rheumatol. — 1996. — Vol. 14. — Suppl. 15. — P. S59—S67.
27. Hirokawa J., Sakaue S., Tagami S. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1997. — Vol. 235, N 1. — P. 94—98.
28. Holland C., Givens V., Smoller B. R. // J. Cutan. Pathol. — 2001. — Vol. 28, N 6. — P. 287—290.
29. Hueber A., Wiedemann P., Esser P., Heimann K. // Int. Ophthalmol. — 1996—1997. — Vol. 20, N 6. — P. 345—350.
30. Kissin E. Y., Lemaire R., Korn J. H., Lafyatis R. // Arthr. and Rheum. — 2002. — Vol. 46, N 11. — P. 3000—3009.
31. Kjellstrom T., Malmquist J. // Horm. Metab. Res. — 1984. — Vol. 16, N 4. — P. 168—171.
32. Kono T., Nishimura F., Sugimoto H. et al. // J. Periodontol. — 2001. — Vol. 72, N 5. — P. 598—604.
33. Koschinsky T., Bunting C. E., Rutter R., Gries F. A. // Diabete et Metab. — 1987. — Vol. 13, N 3, Pt 2. — P. 318—325.
34. Kwak S. I., Chung H., Lee J. // Korean J. Ophthalmol. — 1991. — Vol. 5, N 2. — P. 68—75.
35. Labat-Robert J., Robert L. // Exp. Gerontol. — 1988. — Vol. 23, N 1. — P. 5—18.
36. Lopes-Virella M. // Horm. Metab. Res. — 1985. — Vol. 15. — Suppl. — P. 83—87.
37. Lopes-Virella M. F., Virella G. // Diabetes. — 1996. — Vol. 45. — Suppl. 3. — P. S40—S44.
38. Magre J., Grigorescu F., Reynet C. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1989. — Vol. 69, N 1. — P. 142—150.
39. Murphy M., Godson C., Cannon S. et al. // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274, N 9. — P. 5830—5834.
40. Neidhart M. // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. — 1998. — Vol. 217, N 4. — P. 408—419.
41. Ohgi S., Johnson P. W. // J. Periodontol. Res. — 1996. — Vol. 31, N 8. — P. 579—588.
42. Papaccio G., Sellitti S., Salvatore G. et al. // Microsc. Res. Tech. — 1996. — Vol. 34, N 2. — P. 156—165.
43. Pedagogos E., Hewitson T., Fraser I. et al. // Am. J. Kidney Dis. — 1997. — Vol. 29, N 6. — P. 912—918.
44. Ponsin G., Calvo C., Berthezene F. // Diabete et Metab. — 1991. — Vol. 17, N 6. — P. 497—502.
45. Portero-Otin M., Pamplona R., Bellmunt M. J. et al. // Diabetes. — 2002. — Vol. 51, N 5. — P. 1535—1542.
46. Pournaras C. J., Donati G., Kapetanios A. D. et al. // Klin. Mbl. Augenheilk. — 1998. — Bd 212, N 5. — S. 356—358.
47. Riser B. L., Denichilo M., Cortes P. et al. // J. Am. Soc. Nephrol. — 2000. — Vol. 11. — P. 25—38.
48. Rittie A., Monboisse J. C., Gorisse M. C., Gillery P. // J. Cell. Physiol. — 2002. — Vol. 191, N 2. — P. 227—236.
49. Saed G. M., Diamond M. P. // Fertil. and Steril. — 2003. — Vol. 79, N 1. — P. 158—163.
50. Sbraccia P., Goodman P. A., Maddux B. A. et al. // Diabetes. — 1991. — Vol. 40, N 2. — P. 295—299.
51. Solini A., Chiozzi P., Falzoni S. et al. // Diabetologia. — 2000. — Vol. 43, N 10. — P. 1248—1256.
52. Steppan C. M., Bailey S. T., Bhat S. et al. // Nature. — 2001. — Vol. 409, N 6818. — P. 307—312.
53. Twigg S. M., Chen M. M., Joly A. H. et al. // Endocrinology. — 2001. — Vol. 142, N 5. — P. 1760—1769.
54. Twigg S. M., Joly A. H., Chen M. M. et al. // Endocrinology. — 2002. — Vol. 43, N 4. — P. 1260—1269.
55. Vesey D. A., Cheung C., Cuttle L. et al. // J. Lab. Clin. Med. — 2002. — Vol. 140, N 5. — P. 342—350.
56. Viberti G. C., Messeri J. // Cardiology. — 1991. — Vol. 79. — Suppl. 1. — P. 55—61.