

of degenerative processes compared with a group of rats treated with insulin. Many glomeruli had increased cellularity with normal Bowman's spaces, while in the proximal convoluted tubules was observed weakly pronounced vacuolization and pyknotic nuclei and some less hypertrophy of tubular epithelium. Kidney sections of insulin-treated rats were showed signs of diffuse expansion of mesangial area with proliferation of mesangial cells and its PAS-positive matrix. While signs of mesangial expansion were absent in the dapagliflozin group. Analysis of the degree of glomerulosclerosis data was showed significant differences between the group of rats treated with dapagliflozin and insulin and the group of rats treated with insulin — 0.5 (0.4–0.6) and 1.1 (1.0–1.2), respectively ($p=0.005$). Furthermore, it revealed significant difference in percentage of mesangial area between group of rats treated with dapagliflozin and insulin and the group of rats treated with insulin — 28% (23–32) and 37% (33–41), respectively ($p=0.0082$). Insulin-treated rats were showed significantly higher level of albuminuria compared with dapagliflozin-treated rats — 91.8 mg/24h (74.1–108.5) and 50.9 mg/24 hr (41.3–60.2), respectively, ($p=0.012$).

Conclusions. Administration of dapagliflozin slows the progression of glomerulosclerosis and reduces the degree of its severity and the level of albuminuria, which may suggest a renoprotective properties.

KEYWORDS

SGLT2 inhibitors; experimental type 1 diabetes; kidney morphology; dapagliflozin.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ИНГИБИТОРОВ НАТРИЙ-ГЛЮКОЗНОГО ТРАНСПОРТЕРА 2-ГО ТИПА НА МОРФОЛОГИЮ ПОЧЕК У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 1-ГО ТИПА

Д.А. Лебедев, Н.П. Лихоносков, Т.П. Тучина, А.Ю. Бабенко

ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Недавно в качестве терапии сахарного диабета были утверждены несколько членов нового класса препаратов — ингибиторов натрийглюкозных котранспортеров 2-го типа (ИНГТ2). ИНГТ2 обеспечивают снижение гликемии и нормализацию почечной перфузии. При этом нефропротективный эффект остается предметом исследований.

Цель исследования — оценка влияния ИНГТ2 на почечную ткань крыс с экспериментальным СД1.

Материал и методы. В исследование включены 22 белых крыс-самцов в возрасте 10 мес со стрептозотоцин-индуцированным сахарным диабетом (СИСД). Для отбора крыс в опыт производилась оценка уровня гликемии. Критерием СД был уровень гликемии >7 ммоль/л и/или положительный глюкозотолерантный тест. Крысы были разделены на три группы: 1-я группа (здоровый контроль) — группа животных без СИСД, 2-я группа (диабетический контроль) — животные со СИСД, получавшие инсулин НПХ; 3-я группа — животные со СИСД, получавшие инсулин НПХ и дапаглифлозин в дозе 0,1 мг/кг в течение 4 нед. В конце эксперимента у животных собиралась суточная моча с помощью метаболических камер, в которые животные предварительно помещались. Затем

производилась отмена препарата, животные выводились из эксперимента, а ткань почки забиралась для морфологической оценки. Выполнялась светооптическая микроскопия парафиновых срезов, окрашенных гематоксилином и эозином и PAS-реакцией. Статистическую значимость различий и взаимосвязей оценивали с помощью стандартных методов непараметрической статистики.

Результаты. Срезы почек контрольных крыс, окрашенных гематоксилином и эозином, имели классическую структуру почечной ткани. В свою очередь в гистологических препаратах почек крыс из группы инсулина имелись выраженный кортикальный гломерулосклероз, пролиферация мезангиальных элементов и частичное сужение пространств Боумена. В большей части проксимальных извитых канальцев наблюдались чрезмерная гипертрофия, вакуолизация и пикнотические ядра. Почки крыс, получавших дапаглифлозин и инсулин, имели меньшую выраженность дегенеративных процессов по сравнению с группой крыс на инсулине. Многие почечные клубочки имели повышенную клеточность с нормальными пространствами Боумена, в то время как в проксимальных извитых канальцах наблюдались слабовыраженная вакуолизация, отдельные пикнотические ядра и меньшая гипертрофия канальцевого эпителия. В группе крыс, получавших инсулин НПХ, в срезах почек имелись признаки диффузного расширения мезангия с его пролиферацией и PAS-положительным матриксом. В то время как в группе дапаглифлозина отсутствовали признаки расширения мезангия, анализ данных по степени гломерулосклероза показал значимые различия между группой крыс, получавших дапаглифлозин, и группой крыс, получавших инсулин НПХ — 0,5 (0,4–0,6) и 1,1 (1,0–1,2) соответственно ($p=0,005$). Кроме того, выявлено значимое различие по площади мезангия между группой дапаглифлозина и группой инсулина — 28% (23–32) и 37% (33–41) соответственно ($p=0,0082$). При анализе показателей альбуминурии в исследуемых группах выявлены значимые различия между группой монотерапии инсулином и группой крыс, получавших дапаглифлозин и инсулин, — 91,8 мг/24 сут (74,1–108,5) против 50,9 мг/24 сут (41,3–60,2); $p=0,012$.

Выводы. Лечение дапаглифлозином замедляет прогрессирование гломерулосклероза и уменьшает степень его выраженности, а также уровень экскреции альбумина с мочой, что может свидетельствовать о нефропротективных свойствах.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

Ингибиторы натрий-глюкозных котранспортеров 2-го типа; экспериментальный сахарный диабет 1-го типа, морфология почек; дапаглифлозин.

★ ★ ★

doi: 10.14341/probl201662513-14

ROLE OF P38 MAPK PATHWAY IN APOPTOSIS INDUCTION BY SATURATED FATTY ACID IN HUMAN PANCREATIC B-CELLS

J. Šrámek, V. Němcová-Fürstová, K. Balušíková, P. Daniel, M. Jelínek, J. Kovář

Charles University in Prague, Czech Republic

Background. Pancreatic β -cells failure and apoptosis in response to chronically elevated concentrations of saturated fatty

acids in blood was considered as one of the main causes of type 2 diabetes mellitus development. Although precise molecular mechanisms of this process are still unclear, there are some indications that the p38 MAPK signaling pathway could be involved.

Aim, material and methods. Therefore, we tested the role of p38 MAPK signaling pathway activation in apoptosis induction by SA in human pancreatic β -cells NES2Y. Crosstalk between p38 MAPK pathway activation and accompanying ERK pathway inhibition after SA application was also tested.

Results. We have found that saturated SA at apoptosis-inducing concentration (1 mM) activated the p38 MAPK signaling pathway $\text{MKK3/6} \rightarrow \text{p38 MAPK} \rightarrow \text{MAPKAPK-2}$ and inhibited the ERK signaling pathway $\text{c-Raf} \rightarrow \text{MEK1/2} \rightarrow \text{ERK1/2}$. The inhibition of p38 MAPK expression by siRNA silencing had no significant effect on cell viability or the level of phosphorylated ERK pathway members after SA administration. The inhibition of p38 MAPK activity by the specific inhibitor SB202190 resulted in noticeable activation of ERK pathway members after SA treatment but in no significant effect on cell viability. p38 MAPK overexpression by plasmid transfection produced no significant influence on cell viability or ERK pathway activation after SA exposure. The activation of p38 MAPK by the specific activator anisomycin led to apoptosis induction similar to application of SA (PARP cleavage and caspase-7, -8, and -9 activation) and in inhibition of ERK pathway members.

Conclusions. We demonstrated that apoptosis-inducing concentrations of SA activate the p38 MAPK signaling pathway and that this activation could be involved in apoptosis induction by SA in the human pancreatic β -cells NES2Y. However, this involvement does not seem to play a key role. Crosstalk between p38 MAPK pathway activation and ERK pathway inhibition in NES2Y cells seems likely. Thus, the ERK pathway inhibition by p38 MAPK activation does not also seem to be essential for SA-induced apoptosis.

KEYWORDS

p38 MAPK; ERK; fatty acids; pancreatic beta-cells; apoptosis; NES2Y.

FOUNDING INFO

This work was supported by research projects GAUK 1270213, UNCE 204015 and PRVOUK P31 from Charles University in Prague, Czech Republic.

РОЛЬ P38 MAPK В РЕГУЛЯЦИИ АПОПТОЗА НАСЫЩЕННЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В β -КЛЕТКАХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

J. Šrámek, V. Němcová-Fürstová, K. Balušíková, P. Daniel, M. Jelínek, J. Kovář

Карлов Университет Праги, Чехия

Введение. Снижение функциональной активности и апоптоза β -клеток поджелудочной железы в ответ на стойкое повышение концентрации насыщенных жирных кислот в крови ранее рассматривалось в качестве одной из основных причин развития сахарного диабета 2-го типа. Хотя точные молекулярные механизмы этого процесса до сих пор не известны, есть данные о важной роли каскада p38 MAPK.

Цель, материал и методы. В нашем исследовании была проведена оценка роли p38 MAPK каскадного пути в активации апоптоза SA β -клеток поджелудочной железы человека NES2Y. Также изучена взаимосвязь между активацией каскада p38 MAPK и ингибированием пути ERK после нанесения SA.

Результаты. Нами было выявлено, что насыщенные SA при концентрации, индуцирующей апоптоз (1 mM), активирует p38 MAPK сигнальным каскадом $\text{MKK3/6} \rightarrow \text{p38 MAPK} \rightarrow \text{MAPKAPK-2}$ и ингибирует ERK сигнальный путь $\text{c-Raf} \rightarrow \text{MEK1/2} \rightarrow \text{ERK1/2}$. Ингибирование экспрессии MAPK p38 по миРНК глушителей не оказало существенного влияния на жизнеспособность клеток или уровень фосфорилированных компонентов ERK. Ингибирование активности p38 MAPK специфическим ингибитором SB202190 привело к заметной активации компонентов ERK после применения SA, но не оказало существенного влияния на жизнеспособность клеток. После воздействия SA на избыточную экспрессию плазмидной трансфекцией p38 MAPK не дало существенного влияния на жизнеспособность клеток или активацию пути ERK. Активация p38 MAPK специфическим активатором анизоминин привело к индукции апоптоза аналогично применению SA (PARP расщепления и каспазы-7, -8, -9 и активации) и в ингибированных компонентах ERK.

Выводы. Мы показали, что апоптоз-индуцирующие концентрации SA активируют p38 MAPK каскад и что эта реакция может влиять на индукцию апоптоза SA в человеческих β -клетках NES2Y поджелудочной железы. Тем не менее его участие, возможно, не играет ключевую роль. Вполне вероятно существование активного взаимодействия между p38 MAPK каскадом и компонентами ERK пути торможения в клетках NES2Y. Таким образом, ингибирование ERK каскада p38 MAPK не имеет столь важного значения для SA-индуцированного апоптоза.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

p38 MAPK; ERK; жирные кислоты; бета-клетки поджелудочной железы; апоптоз; NES2Y.

ИНФОРМАЦИЯ О ФИНАНСИРОВАНИИ

Эта работа была проведена при поддержке исследовательских проектов GAUK 1270213, UNCE 204015 и PRVOUK P31 из Карлова университета в Праге, Чехия.

★ ★ ★

doi: 10.14341/probl201662514-16

RENAL DYSFUNCTION MARKERS IN PATIENTS WITH DIABETES MELLITUS TYPE 1 AFTER KIDNEY OR SIMULTANEOUS KIDNEY-PANCREAS TRANSPLANTATION

A. Glazunova¹, L. Nikankina, A. Il'in, M. Shamkhalova¹, G. Musaeva², M. Shestakova^{1,2}, Y. Moysyuk³, I. Dedov¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

³Academician V.I. Shumakov federal research center of transplantology and artificial organs, Moscow, Russian Federation

Objective. To examine kidney transplant dysfunction markers in patients with diabetes mellitus type 1 (T1DM) after kidney transplantation (KT) and simultaneous kidney-pancreas transplantation (SPK).

Material and methods. The study included 20 patients after successful SPK (group 1) and 41 patients after KT (21 received insulin pump therapy (group 2), 20 — multiple daily injections