

УДК 616.379-008.64-002:577.2

DOI: 10.24026/1818-1384.2(58).2017.105627

АКТИВНОСТЬ АМРК В ЛИМФОЦИТАХ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ ПРИ ДЕЙСТВИИ САХАРОСНИЖАЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ



**Л.К. Соколова, В.М. Пушкарев, Ю.Б. Бельчина,
В.В. Пушкарев, И.В. Гончар, Н.Д. Тронько**

*ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комисаренко
НАМН Украины», г. Киев,*

ВВЕДЕНИЕ

О связи между гипергликемией и сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) известно в течение нескольких десятилетий. Пациенты с сахарным диабетом (СД) 2 типа подвержены повышенному риску возникновения серьезных неблагоприятных кардиальных событий, этот риск примерно вдвое выше, чем у пациентов без диабета. Известно, что пациенты с СД 2 типа имеют в 2-3 раза больше шансов заболеть инфарктом миокарда (ИМ), инсультом и, как следствие, имеют больший риск сердечно-сосудистой смерти, чем лица без диабета. Кроме того, больные диабетом подвержены гораздо более высокому риску развития сердечной недостаточности и дисфункции левого желудочка по сравнению с лицами без диабета [1].

Эффективность выбора лечебной тактики при ведении пациента СД 2 определяется с учетом завершенных многочисленных долгосрочных рандомизированных исследований (UKPDS, ACCORD, ADVANCE, VADT, STENO-2 и др.)

До последних нескольких лет мы располагали результатами только 4 крупных исследований, где оценивалось влияние более интенсивного контроля гликемии на риск возникновения нестабильной стенокардии, ИМ, инсульта и смерти от сердечно-сосудистых катастроф. Это Британское проспективное исследование (UKPDS) у людей с

впервые выявленным СД 2 типа [2, 3], исследование по контролю сердечно-сосудистого риска у больных сахарным диабетом (ACCORD), ADVANCE (Action in Diabetes and Vascular disease – Preterax and Diamicron MR Controlled Evaluation) и исследование госпиталя ветеранов (VADT) у людей с длительным СД 2 типа и дополнительными факторами риска ССЗ [4, 5]. Исследование UKPDS длилось 10 лет, а другие три исследования – от 3,5 до 5 лет. Во всех четырех исследованиях в группе интенсивного лечения был достигнут целевой уровень HbA1c, и поддерживался на этом уровне в течение периода наблюдения. Однако, ни одно из этих исследований не продемонстрировало четкого снижения сердечно-сосудистого риска. Тем не менее, после проведения мета-анализа результатов было отмечено достоверное снижение комбинированной конечной точки (инфаркт миокарда, инсульт или сердечно-сосудистая смерть) на 9%. Нужно отметить, что наиболее значимый вклад в получение таких результатов бы внесен благодаря исследованию ADVANCE, где в ходе пятилетнего наблюдения было достигнуто снижение риска развития микро- и макрососудистых осложнений на 10% ($p < 0,013$), снижение сердечно-сосудистой смертности – на 12% ($p < 0,12$), некоторое, хотя и статистически недостоверное, снижение общей смертности на 7% ($p < 0,28$), выраженное снижение риска развития

Соколова Любовь Константиновна д. мед. н., старший научный сотрудник, заведующая отделом диабетологии, E-mail: lubov_sokolova@ukr.net; Пушкарев Владимир Михайлович д. б. н., главный научный сотрудник отдела фундаментальных и прикладных проблем эндокринологии, E-mail: pushkarev.vm@gmail.com; Бельчина Юлия Богуславовна к. мед. н., старший научный сотрудник отдела диабетологии, E-mail: belchina_@ukr.net; Пушкарев Виктор Владимирович к. б. н., научный сотрудник отдела фундаментальных и прикладных проблем эндокринологии, E-mail: axolotle@gmail.com; Гончар Ирина Владимировна к. б. н., старший научный сотрудник отдела фундаментальных и прикладных проблем эндокринологии, E-mail: irenevlad@gmail.com; Тронько Николай Дмитриевич директор Института, акад. НАМН Украины, чл.-корр. НАНУ, E-mail: iem_admi@bigmir.net

микрососудистых осложнений нефропатии – на 21% ($p < 0,006$) и макроальбинурии – на 30% ($p < 0,001$) [6].

Таким образом, главным итогом исследования ADVANCE следует признать значимость интенсивного гликемического контроля в предотвращении микрососудистых осложнений СД 2 типа. Доказательств эффективности интенсивной терапии в отношении профилактики основных макрососудистых заболеваний получено не было, хотя небольшую пользу авторы не исключают. Важно, что применение гликлазида (Диабетон MR) позволило безопасно достичь целевого уровня HbA1c у большинства пациентов независимо от таких факторов как возраст пациентов, давность заболевания, предшествующая сахароснижающая терапия, исходный уровень HbA1c, индекс массы тела. Полученные результаты позволили доказать клиническую и прогностическую эффективность гликлазида [6].

В течение последних 50 лет производные сульфонилмочевины занимали ведущие позиции в лечении СД 2 типа. Основной сахароснижающий эффект данных препаратов связан с воздействием на β -клетки и усилением секреции инсулина, однако каждый из препаратов этой группы имеет свои особенности [7]. Поскольку основной причиной смертности среди больных СД 2 являются заболевания сердечно-сосудистой системы, наибольшее значение имеет влияние сахароснижающих препаратов на риск развития и прогрессирования кардиоваскулярной патологии.

Одним из представителей препаратов сульфонилмочевины является оригинальный гликлазид – Диабетон MR. Этот препарат имеет в качестве действующего начала гликлазид, помещенный на гидрофильный матрикс из волокон гипромеллозы. При взаимодействии с желудочно-кишечным соком гидрофильный матрикс образует гель, что приводит к постепенному высвобождению препарата в течение суток при однократном приеме перед завтраком. Препарат характеризуется сбалансированной фармакокинетикой. Его максимальная концентрация отмечается в дневное время с постепенным снижением в течение дня. Биодоступность составляет 96,7%. Период полувыведения равен 17 часам. Согласно данным экспериментальных исследований, гликлазид избирательно, с высоким сродством и обратимо связывается с регуляторной субъединицей КАТФ-каналов β -клеток поджелудочной железы. Полагают,

что именно этим объясняется высокая клиническая эффективность хорошая переносимость препарата, в том числе при назначении больным пожилого возраста и пациентам с почечной недостаточностью средней степени тяжести [8]. Результаты недавно проведенных широкомасштабных исследований подтверждают высокую метаболическую эффективность новой лекарственной формы гликлазида (Диабетон MR), предназначенной для приема перорально 1 раз в сутки. Так, гликлазид эффективен в виде монотерапии у большинства пациентов с СД 2 типа, ранее принимавших один или даже два пероральных сахароснижающих препарата. Эти данные полностью соответствуют результатам ранее проведенных исследований, которые свидетельствовали о том, что при терапии гликлазидом сохраняется эффективный гликемический контроль и крайне редко развивается вторичная декомпенсация [7]. Оригинальный гликлазид метаболизируется в печени путем гидроксилирования с образованием 7 неактивных метаболитов. Выводится почками (70%) и через желудочно-кишечный тракт (30%). Благодаря указанным свойствам при однократном приеме всей дозы утром Диабетон MR обеспечивает устойчивый сахароснижающий эффект в течение суток. Препарат может применяться при диабетической нефропатии на стадии протеинурии при скорости клубочковой фильтрации не ниже 30 мл/мин. В клинических и экспериментальных исследованиях показано, что использование оригинального гликлазида (Диабетон MR) приводит к восстановлению первой фазы секреции инсулина, снижению постпрандиальной гликемии и уменьшению постпрандиального запоздалого повышения уровня инсулина [9].

Нежелательные побочные эффекты всех препаратов сульфонилмочевины, основным механизмом действия которых является стимуляция β -клеток поджелудочной железы, – это развитие гипогликемий и прибавка массы тела. Однако при применении препаратов данной группы эти явления выражены в разной степени. В отличие от других производных сульфонилмочевины гликлазид восстанавливает ранний пик секреции инсулина и предотвращает избыточный выброс инсулина во второй фазе секреции [10]. Благодаря этому риск развития гипогликемии на фоне приема препарата минимален. Кроме того, гликлазид сохраняет нейтральность в отношении массы тела. Помимо восстановления физиологического

профіля секреції інсуліна, гліклазид підвищує чутливість тканин до інсуліну (в першу чергу печінки та скелетних м'язів), що має важливе значення для збереження нормального рівня глюкози в крові. Ризик гіпоглікемії при лікуванні оригінальним гліклазидом є низьким і становить менше 5% [11].

Хороша переносимість і безпека цього препарату в багатьох відношеннях пояснюються високою оборотністю зв'язування гліклазиду з рецепторами на поверхні β-кліток [12]. Наслідком низької оборотності зв'язування препаратами сульфонілмочевини (ПСМ) з рецепторами (наприклад, при застосуванні глібенкламіда) є пролонгація секреторної активності, що може визначати високий ризик розвитку гіпоглікемії, збільшення маси тіла, вичерпання та загибель β-кліток.

Рецептором для ПСМ є SUR-суб'єдінка АТФ-залежних калієвих каналів (КАТР-канали) β-клітки. Взаємодія з SUR-суб'єдінкою призводить до закриття КАТР-каналів, збільшенню надходження іонів Ca²⁺ всередину клітки і як наслідок – до посилення секреції інсуліну шляхом екзоцитозу [13]. Сахароснижуючий ефект ПСМ проявляється, тільки коли є достатня кількість функціонально активних β-кліток. Канал КАТР – це комплекс, що складається з рецептора сульфонілмочевини 1 (SUR1), який є регуляторною суб'єдінкою, і калієвих каналів внутрішнього випрямлення (Kir6.2), що утворюють пору каналу. Чотири суб'єдінки SUR1 та чотири суб'єдінки Kir6.2 складають канал КАТР. Зв'язування сульфонілмочевини з SUR1 призводить до закриття каналу КАТР, збільшенню концентрації внутрішньоклітинного калію, деполяризації мембрани β-кліток і наступному відкриттю потенціал-керованих кальцієвих каналів. Надходження кальцію в β-клітку стимулює рух інсулін-залежних секреторних гранул до поверхні клітки. Ці секреторні гранули звільнюються з β-кліток в кровоток [14].

КАТР-канали також беруть участь в регуляції обмінних процесів в різних тканинах, в т. ч. в міокарді, скелетних м'язах, гладком'язових клітках судин та ЦНС. КАТР-канали мають тканеву специфічність, що залежить від структури та молекулярної маси складових рецепторних суб'єдінків. КАТР-канали грають роль «сенсорів» при виникненні таких метаболічних стресів, як гіперглікемія, гіпоглікемія,

ішемія та гіпоксія. В стінці судин КАТР-канали беруть участь в регуляції м'язового тону, в коронарних артеріях – в вазодилатації в відповідь на ішемію. КАТР-канали (Kir 6.2/SUR1) гіпоталамуса беруть участь в регуляції секреції глюкагона в відповідь на гіпоглікемію, а також в регуляції продукції глюкози печінкою. В міокарді активація КАТР-каналів в час ішемії сприяє зменшенню пошкодження серцевої м'язової тканини. Цей феномен отримав назву ішемічного прекодиціонування або ішемічного підготування. Фізіологічний зміст його полягає в тому, що в умовах ішемії серце захищає себе від інфаркту [15].

В нормі КАТР-канали кардіомиоцита закриті. В умовах ішемії відбувається їх відкриття, і іони калію виходять з клітки. Збільшується електричний потенціал мембрани, обмежується приток іонів кальцію і настає розслаблення м'язів. В результаті це призводить до більш економічного витрату високоенергетичних фосфатів кардіомиоцитами в умовах ішемії, знижує витрати кисню. Деякі ПСМ (глібенкламід та толбутамід) зв'язуються з КАТР-каналами як β-кліток, так і кардіомиоцитів, що блокує кардіопротективний ефект ішемічного підготування і може призводити до посилення пошкодження міокарда в умовах ішемії, збільшенню площі інфаркту [15].

Ці дані про існування різних ізоформ рецепторів до сульфонілмочевини в підшлунковій залозі (SUR1), міокарді (SUR2A) та судинах (SUR2B) дозволяють диференціювати препарати сульфонілмочевини за селективністю, афінністю та оборотністю їх зв'язування з рецепторами різних тканин. Висока спорідненість гліклазиду до сульфонілмочевинних рецепторів підшлункової залози визначає ефективність його дії на секреторну функцію, в той час як висока селективність до рецепторів підшлункової залози забезпечує безпеку в системі серцево-судинній. Оборотність зв'язування гліклазиду з рецепторами β-кліток сприяє запобіганню розвитку гіпоглікемії, вторинної резистентності до препарату, а також забезпечує нейтральність в відношенні маси тіла [9, 12].

При використанні спеціальних методик були виміряні електричні потенціали мембран калієвих каналів при впливі різних ПСМ. Виявилось, що гліклазид оборотно

взаимодействует с АТФ-зависимыми калиевыми каналами β -клеток и не связывается с рецепторами на кардиомиоцитах, поскольку не имеет в своем составе бензамидной группы. При изучении глибенкламида и меглитинида показано, что оба препарата связываются с рецепторами как β -клеток, так и кардиомиоцитов.

Таким образом, на основании современных знаний можно утверждать, что больным СД с наличием ИБС, особенно при ее осложненном течении, предпочтительнее применять ПСМ с минимальным кардиальным эффектом [8]. Молекула оригинального гликлазида имеет уникальное строение. Наличие в ней кольцевой структуры – аминоказобиклооктановой группы – делает этот препарат единственным ПСМ, обладающим антиоксидантными свойствами.

Учитывая данные, полученные в клинических исследованиях и экспериментальных работах, нами предпринята попытка изучить активность АМРК в лимфоцитах при действии различных сахароснижающих терапевтических препаратов, в частности, при использовании оригинального гликлазида МР, как в качестве монотерапии, так и в сочетании с метформинном.

Известно, что АМФ-активированная протеинкиназа (AMP activated protein kinase, АМРК) – фермент, контролирующий энергетический баланс клетки. При диабете 2 типа и ожирении активность ее снижается, а активность протеинкиназ mTORC1/p70S6K возрастает, что ведет к фосфорилированию инсулинового рецептора IRS и инсулинорезистентности [16].

АМРК – гетеротример, состоящий из каталитической субъединицы (α) и двух регуляторных субъединиц (β и γ). γ -субъединица содержит 4 потенциальных сайта, связывающих адениновые нуклеотиды [17, 18]. При энергетическом стрессе в клетке и повышении концентрации АМФ в обмениваемых центрах АТФ заменяется на АМФ, в результате чего происходит аллостерическая активация АМРК путем фосфорилирования 172 остатка треонина α -субъединицы – комплексом LKB1 в ответ на изменение энергетики клетки, или кальмодулиновой киназой CaMKK β , которая активируется увеличением внутриклеточной концентрации ионов Ca²⁺ [19]. Фосфорилированием метаболических ферментов и факторов транскрипции АМРК включает катаболические процессы – поглощение глюкозы и жирных кислот и их превращение путем митохондриального

окисления и гликолиза. Кроме того, АМРК подавляет анаболические процессы – синтез глюкозы, гликогена и липидов в печени [20].

Метформин (МФ) (гидрохлорид 1,1-диметилбигуанида) – основной пероральный препарат, который используется в клинике для лечения пациентов с СД 2 типа. МФ снижает гипергликемию в основном за счет подавления печеночного глюконеогенеза наряду с усилением трансдукции сигналов инсулина. Тем не менее, механизм его действия остается недостаточно изученным, особенно в отношении деталей механизмов участия АМРК в эффектах метформина [21].

Таким образом, действие сахароснижающих препаратов, таких как МФ, связано с активацией АМРК, а производных сульфонилмочевины – со стимуляцией выхода инсулина из β -клеток поджелудочной железы [22].

Целью работы было изучение воздействия МФ и оригинального гликлазида MR (Диабетона MR), а также их комбинации, на активность АМРК в клетках крови больных СД 2 типа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе отдела диабетологии ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ имени В.П. Комисаренко НАМН Украины». Все пациенты подписывали информированное согласие на проведение дальнейших современных методов диагностики и исследования. Сразу же после забора кровь центрифугировали используя HistoRaque 1077 (Sigma, США), полученные лимфоциты промывали и замораживали при -80 °С до использования. Клетки лизировали в буфере для экстракции сингилиторами протеаз и фосфатаз. Для определения количества фосфо-АМРК (фосфо-треонин 172) использовали наборы для иммуноферментного анализа ab154468 фирмы Abcam (Великобритания). Исследования проводились в триплетах. Концентрацию белка в лизате определяли с помощью наборов (BCA protein assay kit) фирмы Novagen (США). Измерения проводили на микропланшетном ридере фирмы Bio-tek Instruments (США) при длине волны 450 нм.

Результаты исследования представлены как $M \pm m$, $n = 3-6$. Для сравнения групп данных использовали t -критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Больные были разделены на группы: 1 –

пациенты, болеющие СД 1 типа, находящиеся на инсулинотерапии; 2 – пациенты с СД 2 типа до начала сахароснижающей терапии; 3 – пациенты с СД 2 типа, получающие в качестве сахароснижающей терапии метформин в дозе 1000 мг 2 раза в день; 4 – пациенты, получающие в качестве монотерапии гликлазид MR (Диабетон MR) в дозе от 60 до 120 мг в сутки, 5 – пациенты, находящиеся на комбинированной терапии (метформин и Диабетон MR). Группу контроля составили лица, не болеющие СД, репрезентативные по возрасту.

Для построения калибровочной кривой при определении АМРК, использовали культуру клеток почки эмбриона человека НЕК293Т, которые являются рекомендованным фирмой-изготовителем набора позитивным контролем для определения активности АМРК. Из рис. 1 видно небольшое расхождение расчетной и калибровочной кривых, начиная с оптической плотности (ОП600) 0,2. Однако полученные нами значения ОП (0,09 – 0,2) расположены в области кривой, практически идеально совпадающей с теоретическими кривыми (кривая Больцмана), что свидетельствует об отсутствии разброса данных.

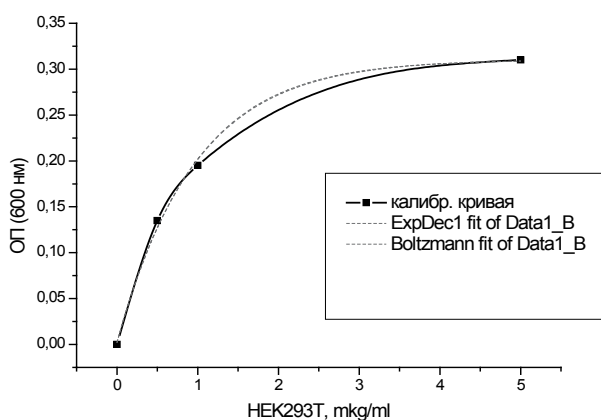
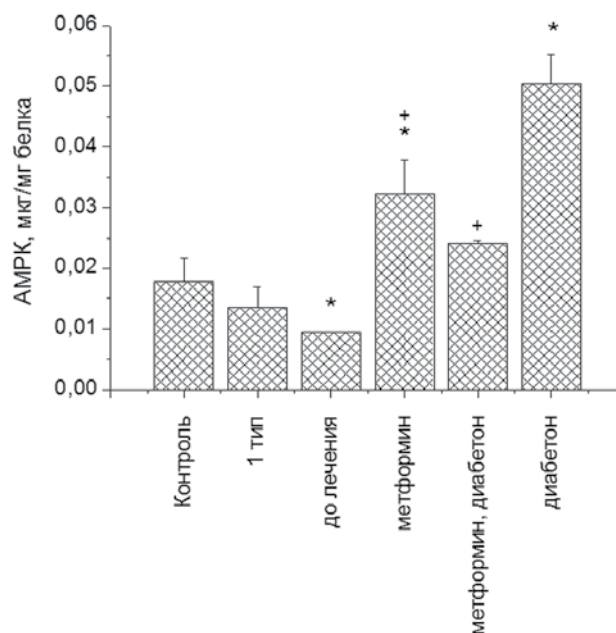


Рис. 1. Калибровочная кривая. Ордината – оптическая плотность при 600 нм; абсцисса – содержание фосфо-АМРК (фосфо-треонин 172) в клетках НЕК293Т (мкг/мл).

Активность АМРК определяется по количеству фосфорилированной по 172 остатку треонина α -субъединицы белка. Из рис. 2 видно, что в контрольных образцах уровень фосфорилированной формы АМРК составляет примерно 0,02 мкг/мг белка. Примерно такой же уровень наблюдается у больных СД 1 типа с инсулинотерапией. Количество активированной АМРК у больных СД 2 типа до лечения – ниже контрольного. Метформин повышает активность

АМРК в клетках крови более чем в 1,5 раза, что может свидетельствовать о более широком



Примечания: $M \pm m$, * – отличия от контроля достоверны, $p < 0,05$; + – отличия от действия Диабетона MR достоверны, $p < 0,05$.

Рис. 2. Активность АМРК у больных сахарным диабетом до лечения и после приема сахароснижающих препаратов.

воздействию препарата не только на мышцы, печень и жировую ткань, но и на другие ткани и органы. Обращает на себя внимание отсутствие эффекта инсулина на активность АМРК у больных СД 1 типа, что указывает на независимость сигнальных путей этих факторов. К тому же, инсулин может даже ингибировать стимулированное адренергическими агонистами фосфорилирование АМРК по 172 треонину [23]. Сейчас известно, что действие метформина в основном связано с подавлением образования глюкозы в печени посредством активации пути LKB-АМРК [24]. Поэтому данные о повышении активности фермента в клетках крови представляют существенный интерес, так как свидетельствуют об универсальном действии бигуанидов на все ткани организма, в том числе и на макрофаги, воспалительный процесс в которых вследствие ожирения, играет важную роль в усилении инсулинорезистентности. Описан также стимулирующий эффект МФ на активность АМРК в недифференцированных клетках-предшественниках костного мозга [25]. С практической точки зрения определение

активності АМРК в клітках крові, можливо, дозволить достатньо легко і швидко оцінити лічєбний ефект приємаємих препаратів, що важно для прогностических цілей.

Нєсколькo неожиданной оказалась стимуляція активності АМРК в клітках крові больних, получавших Диабетон MR (рис. 2), причем эффект последнего оказался существенно выше действия МФ.

В β -клетках АТФ-чувствительные калиевые каналы (КАТР) связывают стимуляцию глюкозой с деполяризацией мембраны. Показано, что АМРК влияет на активность КАТР в β -клетках, усиливая их перемещение к клеточной мембране путем ремоделирования цитоскелета [26]. Действие лептина, ингибирующего секрецию инсулина, опосредуется АМРК и также связано с усилением перемещения КАТР на клеточную мембрану [27]. Снижение продукции глюкозы гепатоцитами происходит вследствие активации сигнальной цепи: АМРК \rightarrow малонил-СоА \rightarrow СРТ-1 \rightarrow LCFA-КоА \rightarrow РКС- δ , ведущей к активации КАТР каналов [28]. Таким образом, активация АМРК противодействует эффекту гликлазида (Диабетона MR) в β -клетках. Возможное объяснение этому факту – компенсаторная активность β -клеток в отношении восстановления функции калиевых каналов, закрытых сульфонилмочевинной, за счет увеличения их количества на клеточной мембране. Интерес вызывает и факт снижения активности АМРК в присутствии обоих сахароснижающих агентов. Возможно, это связано с конкурентным взаимодействием общих сигнальных механизмов, ведущих к активации протеинкиназы.

Допущение, что гликлазид может стимулировать рост активности АМРК и в других тканях и органах, может объяснить повышение чувствительности к инсулину клеток органов-мишеней – печени, жировой и мышечной тканей.

Механизм активации АМРК гликлазидом пока изучен недостаточно. Известно, что действие сульфонилмочевины в β -клетках развивается двумя путями: через КАТР и через Ерас2А (exchange protein activated by cAMP 2A), который также является мишенью для сульфонилмочевины. В итоге достигается полный эффект препарата в отношении секреции инсулина [29]. Ерас2А посредством активации LKB1 стимулирует фосфорилирование и активацию АМРК [30].

ВЫВОДЫ

1. Метформин и Диабетон MR повышают активность АМРК в мононуклеарах крови.

2. Повышение активности АМРК в клетках крови свидетельствует о возможном универсальном действии бигуанидов и сульфонилмочевины на все ткани организма.

3. Снижение активности АМРК в лимфоцитах в присутствии обоих препаратов может быть связано с их конкуренцией в отношении общих сигнальных механизмов, участвующих к активации протеинкиназы.

4. Активность АМРК в клетках крови может служить показателем эффективности действия сахароснижающих препаратов.

5. Механизм активации АМРК Диабетон MR вероятно связан с влиянием последнего на Ерас2А. Активность АМРК определяется по количеству фосфорилированной по 172 остатку треонина α -субъединицы белка. Из рис. 2 видно, что в контрольных образцах уровень фосфорилированной формы АМРК составляет примерно 0,02 мкг/мг белка. Примерно такой же уровень наблюдается у больных СД 1 типа, получающих инсулинотерапию. Количество фосфорилированной АМРК у больных СД 2 типа до лечения – ниже контрольного. Метформин повышает активность АМРК в клетках крови более чем в 1,5 раза, что может свидетельствовать о более широком воздействии на фосфорилирование протеинкиназы через активацию LKB1.

В завершении хотелось бы подчеркнуть, что выбор медикаментозной терапии – сложная комплексная задача. При выборе тактики лечения больных СД 2 типа врачу следует опираться как на клинические рекомендации, так и на результаты экспериментальных исследований и собственный клинический опыт, обязательно учитывая при этом индивидуальные особенности пациента.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. *Haffner S, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M.* Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1998 Jul 23;339(4):229-34.
2. *Turner RC, Millns H, Neil HA, Stratton IM, Manley SE, Matthews DR, Holman RR.* Risk factors for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom Prospective Diabetes

- Study (UKPDS: 23). *BMJ*. 1998 Mar 14;316(7134):823-8.
3. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet*. 1998 Sep 12;352(9131):837-53.
 4. *Radermecker RP, Philips JC, Jandrain B, Paquot N, Scheen AJ*. Blood glucose control and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. Results of ACCORD, ADVANCE and VA-Diabetes trials. *Rev Med Liege*. 2008 Jul-Aug;63(7-8):511-8.
 5. *Gaede P, Vedel P, Parving HH, Pedersen O*. Intensified multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria: the Steno type 2 randomised study. *Lancet*. 1999 Feb 20;353(9153):617-22.
 6. ADVANCE Collaborative Group, Patel A, MacMahon S, Chalmers J, Neal B, Billot L, Woodward M, Marre M, Cooper M, Glasziou P, Grobbee D, Hamet P, Harrap S, Heller S, Liu L, Mancia G, Mogensen CE, Pan C, Poulter N, Rodgers A, Williams B, Bompoint S, de Galan BE, Joshi R, Travert F. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2008 Jun 12;358(24):2560-72.
 7. *Hirst JA, Farmer AJ, Dyar A, Lung TW, Stevens RJ*. Estimating the effect of sulphonylurea on HbA1c in diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Diabetologia*. 2013 May;56(5):973-84.
 8. *Hemmingsen B, Schroll JB, Wetterslev J, et al*. Sulphonylurea versus metformin monotherapy in patients with type 2 diabetes: a Cochrane systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials and trial sequential analysis. *CMAJ Open*. 2014 Jul 22;2(3):E162-75.
 9. *Landman GW, de Bock GH, van Hateren KJ, et al*. Safety and efficacy of gliclazide as treatment for type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *PLoS One*. 2014 Feb 12;9(2):e82880.
 10. *Singh AK, Singh R*. Is gliclazide a sulphonylurea with difference? A review in 2016. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2016 Jun;9(6):839-51.
 11. *Thulé PM, Umpierrez G*. Sulphonylureas: a new look at old therapy. *Curr Diab Rep*. 2014 Apr;14(4):473.
 12. *Lawrence CL, Proks P, Rodrigo GC, et al*. Gliclazide produces high-affinity block of KATP channels in mouse isolated pancreatic beta cells but not rat heart or arterial smooth muscle cells. *Diabetologia*. 2001 Aug;44(8):1019-25.
 13. *Aquilante CL*. Sulphonylurea pharmacogenomics in Type 2 diabetes: the influence of drug target and diabetes risk polymorphisms. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2010 Mar;8(3):359-72.
 14. *Reis AF, Velho G*. Sulphonylurea receptor-1 (SUR1): genetic and metabolic evidences for a role in the susceptibility to type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab*. 2002 Feb;28(1):14-9.
 15. *Nichols CG, Singh GK, Grange DK*. KATP channels and cardiovascular disease: suddenly a syndrome. *Circ Res*. 2013 Mar 29;112(7):1059-72.
 16. *Saha AK, Xu XJ, Balon TW, et al*. Insulin resistance due to nutrient excess: is it a consequence of AMPK downregulation? *Cell Cycle*. 2011 Oct 15;10(20):3447-51.
 17. *Ruderman NB, Carling D, Prentki M, Cacicedo JM*. AMPK, insulin resistance, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2013 Jul;123(7):2764-72.
 18. *Xiao B, Sanders MJ, Underwood E, et al*. Structure of mammalian AMPK and its regulation by ADP. *Nature*. 2011 Apr 14;472(7342):230-3.
 19. *Racioppi L, Means AR*. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2: roles in signaling and pathophysiology. *J Biol Chem*. 2012 Sep 14;287(38):31658-65.
 20. *Jeong KJ, Kim GW, Chung SH*. AMP-activated protein kinase: An emerging target for ginseng. *J Ginseng Res*. 2014 Apr;38(2):83-8.
 21. *An H, He L*. Current understanding of metformin effect on the control of hyperglycemia in diabetes. *J Endocrinol*. 2016 Mar;228(3):R97-106.
 22. *Filippatos TD, Liberopoulos EN, Elisaf MS*. Dapagliflozin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Ther Adv Endocrinol Metab*. 2015 Feb;6(1):29-41.
 23. *Omar B, Zmuda-Trzebiatowska E, Manganiello V, Göransson O, Degerman E*. Regulation of AMP-activated protein kinase by cAMP in adipocytes: roles for phosphodiesterases, protein kinase B, protein kinase A, Epac and lipolysis. *Cell Signal*. 2009 May;21(5):760-6.
 24. *Meng S, Cao J, He Q, et al*. Metformin activates AMP-activated protein kinase by promoting formation of the $\alpha\beta\gamma$ heterotrimeric complex. *J Biol Chem*. 2015 Feb 6;290(6):3793-802.
 25. *Molinuevo MS, Schurman L, McCarthy AD, et al*. Effect of metformin on bone marrow progenitor cell differentiation: in vivo and in vitro studies. *J Bone Miner Res*. 2010 Feb;25(2):211-21.

26. Han YE, Lim A, Park SH, Chang S, Lee SH, Ho WK. Rac-mediated actin remodeling and myosin II are involved in KATP channel trafficking in pancreatic β -cells. *Exp Mol Med*. 2015 Oct 16;47:e190.
27. Wu Y, Shyng SL, Chen PC. Concerted Trafficking Regulation of Kv2.1 and KATP Channels by Leptin in Pancreatic β -Cells. *J Biol Chem*. 2015 Dec 11;290(50):29676-90.
28. Abraham MA, Yue JT, LaPierre MP, Rutter GA, Light PE, Filippi BM, Lam TK. Hypothalamic glucagon signals through the KATP channels to regulate glucose production. *Mol Metab*. 2013 Nov 28;3(2):202-8.
29. Seino S. Cell signalling in insulin secretion: the molecular targets of ATP, cAMP and sulfonylurea. *Diabetologia*. 2012 Aug;55(8):2096-108.
30. Homolya L, Fu D, Sengupta P, et al. LKB1/AMPK and PKA control ABCB11 trafficking and polarization in hepatocytes. *PLoS One*. 2014 Mar 18;9(3):e91921.

РЕЗЮМЕ

Активність АМРК у лімфоцитах хворих на цукровий діабет при дії цукрознижувальних препаратів

Л.К. Соколова, В.М. Пушкарєв, Ю.Б. Бельчина, В.В. Пушкарєв, І.В. Гончар, М.Д. Тронько

Вступ. Аденозинмонофосфат-активована протеїнкіназа (АМРК) – основний фермент, який контролює енергетичний баланс клітини. Активність АМРК знижується при діабеті 2 типу (ЦД2).

Мета. Вивчити активність АМРК в клітинах крові при лікуванні хворих на діабет цукрознижувальними препаратами.

Матеріали та методи. Для визначення кількості активної АМРК використовували набори для імуноферментного аналізу.

Результати та їх обговорення. Вперше показано, що метформін підвищує активність АМРК в лімфоцитах. Діабетон MR – інгібітор натрій-залежного переносника глюкози, також підвищував активність протеїнкінази в клітинах крові і здійснював адитивний ефект щодо метформіну. Передбачається, що активність АМРК в клітинах крові може слугувати одним з показників ефективності дії цукрознижувальних препаратів. Обговорюються механізми впливу цукрознижувальних препаратів на рівень активності АМРК в клітинах крові.

Висновки. МФ і Діабетон MR підвищують активність АМРК в мононуклеарах крові. Підвищення активності АМРК в клітинах крові свідчить про можливу універсальну дію бігуанідів і сульфонілсечовини на

всі тканини організму. Зниження активності АМРК в лімфоцитах в присутності обох препаратів може бути пов'язано з їх конкуренцією щодо загальних сигнальних механізмів, які беруть участь у активації протеїнкінази. Активність АМРК в клітинах крові може служити показником ефективності дії цукрознижувальних препаратів. Механізм активації АМРК Діабетоном MR, ймовірно, пов'язаний з впливом останнього на Ераc2A, який стимулює фосфорилування протеїнкінази через активацію LKB1.

Ключові слова: АМРК, діабет, метформін, Діабетон MR.

РЕЗЮМЕ

Активність АМРК в лимфоцитах больных сахарным диабетом при действии сахароснижающих препаратов

Л.К. Соколова, В.М. Пушкарєв, Ю.Б. Бельчина, В.В. Пушкарєв, И.В. Гончар, Н.Д. Тронько

Введение. Аденозинмонофосфат-активируемая протеинкиназа (АМРК) – основной фермент, контролирующий энергетический баланс клетки. Активность АМРК снижается при диабете 2 типа (СД2).

Цель. Изучить активность АМРК в клетках крови, при лечении больных диабетом сахароснижающими препаратами.

Материалы и методы. Для определения количества активной АМРК использовали наборы для иммуноферментного анализа.

Результаты и их обсуждение. Впервые показано, что метформин повышает активность АМРК в лимфоцитах. Діабетон MR – ингибитор натрий-зависимого переносчика глюкозы, также повышал активность протеинкиназы в клетках крови и оказывал аддитивный эффект в отношении метформина. Предполагается, что активность АМРК в клетках крови может служить одним из показателей эффективности действия сахароснижающих препаратов. Обсуждаются механизмы воздействия сахароснижающих препаратов на уровень активности АМРК в клетках крови.

Выводы. МФ и Діабетон MR повышают активность АМРК в мононуклеарах крови. Повышение активности АМРК в клетках крови свидетельствует о возможном универсальном действии бигуанидов и сульфонилмочевини на все ткани организма. Снижение активности АМРК в лимфоцитах в присутствии обоих препаратов может

быть связано с их конкуренцией в отношении общих сигнальных механизмов, участвующих к активации протеинкиназы.

Активность АМПК в клетках крови может служить показателем эффективности действия сахароснижающих препаратов. Механизм активации АМПК Диабетоном MR, вероятно, связан с влиянием последнего на Epac2A, который стимулирует фосфорилирование протеинкиназы через активацию LKB1.

Ключевые слова: АМПК, диабет, метформин, Диабетон MR.

SUMMARY

AMPK activity in lymphocytes of patients with diabetes under the action of hypoglycemic drugs

Sokolova LK, Pushkarev VM, Belchina YB, Pushkarev VV, Gonchar IV Tronko ND

Introduction. AMP-activated protein kinase (AMPK) is the main enzyme that controls energy balance of the cell. AMPK activity is reduced in type 2 diabetes (T2DM).

Aim. To examine AMPK activity in blood cells, under the treatment of diabetes patients with hypoglycemic agents.

Materials and methods. To determine of the active AMPK amount ELISA kits was used.

Results and discussion. It was shown that metformin increases AMPK activity in lymphocytes. Diabeton MR – an inhibitor of sodium-dependent glucose transporter, also increased protein kinase activity in blood cells and exerted an additive effect to metformin. It is assumed that AMPK activity in blood cells may serve as an indicator of the glucose-lowering drugs effectiveness. The mechanisms of antidiabetic drugs impact on the level of AMPK activity in the blood cells are discussed.

Conclusions. Metformin and Diabeton MR increase AMPK activity in blood mononuclear cells. Increase of AMPK activity in blood cells suggesting a possible universal affect of biguanides and sulfonylureas on all tissues. Reduced AMPK activity in lymphocytes in the presence of both drugs is can be associated with their competition for common signaling mechanisms involved in activation of protein kinases. AMPK activity in blood cells may serve as an indicator of the effectiveness of glucose-lowering drugs. The mechanism of activation of AMPK by Diabeton MR probably due to the influence of the drug on Epac2A, which stimulates protein kinase phosphorylation by LKB1 activation.

Keywords: AMPK, diabetes, metformin, Diabeton MR.

Дата надходження до редакції 25.11.2016 р.