

В.Р. Дрель

ТРАНСПОРТЕРИ ГЛЮКОЗИ: ПЕРЕДУМОВИ ВИНИКНЕННЯ ДІАБЕТИЧНИХ УСКЛАДНЕНЬ

*Львівський національний університет
імені Івана Франка, кафедра біохімії, Україна*

Швидкі темпи індустріалізації поряд із зменшенням фізичного навантаження, зміна раціону харчування у другій половині ХХ століття призвели до значного зростання захворювання людей на цукровий діабет (ЦД), особливо це стосується 2 типу. ЦД прийнято називати епідемією ХХІ століття, яка продовжує прогресувати і за даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) у 2012 році на нього хворіли вже більше 340 млн людей. Серед усіх захворювань смертність від діабетичних ускладнень займає третє місце в Світі і становить понад 3 млн людей на рік [2, 3, 25, 40].

Виникнення та розвиток діабетичних ускладнень (мікро- та макроангіопатій, а також невропатій, ретинопатій, нефропатій та ін.) є однією з найгостріших медико-соціальних проблем сучасності, які потребують негайного вирішення. Згідно з “судинною теорією”, виникнення діабетичних ускладнень відбувається внаслідок патологічних змін у дрібних та крупних кровоносних судинах, що призводить до зниження кровотоку у низці тканин і органів, розвитком у них гіпоксії та зниженням трофічних функцій [2, 17]. Незалежно від типу ЦД, порушення у функціонуванні інсуліну призводять до дисбалансу в обміні основної енергетичної речовини в організмі — глюкози, яка починає накопичуватись в кровотоці. В той же час прийнято вважати, що підвищення рівня глюкози в крові (або гіперглікемія) внаслідок її поганого поглинання чутливими до інсуліну тканинами, в свою чергу, призводить до надмірного її накопичення у низці клітин та тканин, регуляція вмісту якої у них є інсулінонезалежним процесом [4, 5].

У 2004 р. др. Майкл Браунлі запропонував теорію, згідно якої, розвиток діабетичних ускладнень починається внаслідок надмірного над-

ходження глюкози до деяких типів клітин, зокрема ендотеліальних. Внаслідок інтенсифікації циклу трикарбонних кислот та гліколізу, відбувається значне посилення роботи електрон-транспортного ланцюга мітохондрій, аж до його блокування на рівні комплексу III мітохондрій, що, в свою чергу, призводить до надпродукції супероксид-аніону ($\cdot O_2^-$). В той же час, за умов одночасної наявності $\cdot O_2^-$ та NO у клітині, як правило, утворюється пероксинітрид ($ONOO^-$) [29]. Зростання вмісту пероксинітриду, який на сьогодні є визнаним оксидантом номер один у біологічних системах, призводить до розвитку оксидативно-нітративного стресу, який супроводжується пост-трансляційною модифікацією протеїнів по залишках тирозину (утворюються 3-нітропохідні), переокисним окисненням ліпідів, розривами ДНК, змінами у клітинному сигналюванні та ін. [29], що може бути причиною виникнення патологічних змін у низці тканин та клітин організму за умов ЦД.

У відповідь на ушкодження ДНК за участі активних форм кисню та азоту активується репараційний комплекс, до складу якого входить ензим полі-ADP-рибозополімераза-1 (PARP-1). Даний ензим, використовуючи NADH як субстрат, полі-ADP-рибозилує низку протеїнів, в тому числі гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназу (GAPDH). Наслідками пригнічення активності GAPDH є активація сорбітолового і гексозамінного метаболічних шляхів, накопичення метилглюксалу, а також активація протеїн кінази C (PKC). Все це може значно посилювати патологічні зміни за умов ЦД [4]. Крім того, PARP-1 в активному стані може індукувати експресію низки прозапальних цитокінів, а також індукційної NO-синтази (iNOS), що, в свою чергу, може посилювати оксидативно-нітративний стрес [1, 15].

Основні типи транспортерів глюкози людини, їх локалізація та біологічна роль. Більшість клітин (за винятком гепатоцитів, клітин кишечника та нирок у випадку надмірного голодування) позбавлені здатності експресувати глюкозо-6-фосфатазу, через що не можуть продукувати глюкозу, будучи її споживачами з позаклітинного середовища.

Глюкоза є полярною молекулою, тому її переміщення через плазматичну мембрану клітини

потребує специфічних транспортерів. Так, було виявлено, що транспорт глюкози з просвіту тонкої кишки через мембрану епітеліальних клітин, що її вистилають, а також її реабсорбція з просвіту проксимальних каналців нирки епітеліальними клітинами відбувається завдяки наявності Na^+ /глюкозних симпортерів-1 та -2 (SGLT-1 та SGLT-2), з використанням енергії котранспорту іонів Na^+ [13]. У нирці реабсорбцію частини глюкози з клубочкового фільтрату здійснює SGLT-2, тоді як наступні етапи реабсорбції залишків глюкози здійснюються уже в каналцях нирки за участю SGLT-1. Подальшими дослідженнями було виявлено також низку енергонезалежних транспортерів глюкози/гексоз (GLUT). Таким чином, транспортери глюкози були розділені на дві структурно і функціонально різні групи: 1-й тип — Na^+ -залежні транспортери глюкози (SGLT, або енергозалежні транспортери), і 2-й тип — Na^+ -незалежні транспортери глюкози/гексоз (GLUT, або енергонезалежні транспортери).

SGLT здійснюють транспортування глюкози проти градієнту концентрації разом з іонами Na^+ , які потім, завдяки Na^+ - K^+ АТФ-азній помпі та енергії АТФ, переміщуються назад в позаклітинний простір для збереження Na^+ -електрохімічного потенціалу (градієнту). Таким чином, у випадку, коли співвідношення АТФ/АДП у клітині є низьким, транспорт глюкози SGLT не здійснюється, на відміну від GLUT.

GLUT (продукти гену транспортера розчинних у воді речовин — SLC2A) здійснюють, так звану, “полегшену” дифузію глюкози через клітинну мембрану. Крім того, GLUT належать до надродини основних транспортерів, залучених до “полегшеної” дифузії, яка об’єднує органічні аніонні і катіонні транспортери, транспортери гексоз у дріжджів, рослинні гексозо-протонні симпортери та бактерійні сахарозо-протонні симпортери [14].

На даний момент відомо шість Na^+ -залежних транспортерів глюкози (SGLT1 — SGLT6, продукти гену SLC5A), та тринадцять Na^+ -незалежних транспортерів глюкози (GLUT-1 — GLUT-12 і HMIT (H^+ /міоїнозитол транспортер)) [20]. Слід відмітити, що окремі транспортери окрім глюкози здатні переміщати через плазматичну мембрану й інші гексози.

GLUT є інтегральним трансмембранним протеїном, що включає 12 α -спіралей, які пронизують мембрану клітини, формуючи таким чином

канал. Крім того аміно- і карбоксильний кінці амінокислотної послідовності GLUT локалізовані на цитоплазматичній стороні мембрани клітини. “Полегшена” дифузія глюкози та інших гексоз за участю GLUT здійснюється відповідно до моделі альтернативної конформації, яка передбачає, що транспортер експонує єдиний субстратний центр зв’язування у напрямі зовнішньої або внутрішньої сторони мембрани [12]. Приєднання глюкози до такого центру зв’язування провокує конфірмаційну зміну, наслідком чого є її переміщення (транспорт) і відщеплення з іншої сторони мембрани. Внутрішні та зовнішні гексозо-зв’язуючі центри розташовані, ймовірно, в трансмембранних сегментах 9, 10 та 11 [16]. Крім того вважають, що 7 трансмембранний сегмент відповідає за селективність та афінність ізоформ GLUT [31].

На сьогодні ще до кінця не з’ясовано всіх біологічних властивостей ізоформ GLUT, однак виявлено, що всі вони мають різну тканинну/клітинну локалізацію, субстратну специфічність та кінетику транспортування за різних фізіологічних умов [34]. Основними характерними ознаками GLUT є: 1) наявність 12 трансмембранних α -спіралей; 2) 7 консервативних гліцинових залишків у 12 трансмембранних α -спіралях; 3) декілька основних та кислих амінокислотних залишків у внутрішньоклітинній ділянці протеїну; 4) 2 консервативних триптофанових залишки та 5) 2 консервативних тирозинових залишки. Відповідно до структурно-функціональної організації, GLUT були розділені на 3 класи: I — GLUT-1 — GLUT-4; II — GLUT-5, -7, -9 і -11 (дані ізоформи раніше називали транспортерами фруктози); та III — GLUT-6, -8, -10, -12 і HMIT [36]. Тканинну-клітинну локалізацію та основні біологічні властивості GLUT подано у табл. Слід відмітити, що більшість представників підкласів II та III ідентифіковані недавно, і їхні біологічні функції маловивчені.

Однією з особливостей III класу GLUT є розташування характерних сайтів глікозилювання у 9 трансмембранній петлі. Цей сайт глікозилювання є функціонально важливим для GLUT-1 і знаходиться у 1 трансмембранній петлі в перших двох класах транспортерів. Крім того, GLUT-6 та GLUT-8 містять специфічні послідовності, зокрема, ди-лейцинову, що дозволяє їм знаходитись в мікровезикулах, поблизу клітинної мембрани, запобігаючи надходженню глюкози у клітину. Які сигнали індукують їх транслокацію

Локалізація, та основні біологічні властивості GLUT

Ізоформа, (стара назва)	Локалізація у тканинах/клітинах	Функція
GLUT-1, (GTR1)	Широко поширений у всіх тканинах, найбільше виражена у плаценті, сітківці ока, еритроцитах, ендотеліальних клітинах гематоенцефалічного бар'єру, а також у ембріональних тканинах на ранніх стадіях розвитку.	Відповідає за низький (базальний) рівень поглинання клітинами глюкози, необхідної для підтримання дихання. Крім глюкози, є основним транспортером вітаміну С (тваринами, які позбавлені здатності його синтезувати).
GLUT-2, (GTR2)	Печінка, гіпоталамус, нирки, кишечник, β-клітини підшлункової залози.	Володіє високою пропускнуою здатністю та низькою афінністю. Здійснює двонаправлене транспортування глюкози у гепатоцитах та епітеліальних клітинах тонкого кишечника та нирок. Є основним сенсором глюкози у β-клітинах підшлункової залози та гепатоцитах. Крім глюкози може транспортувати глюкозамін.
GLUT-3, (GTR3)	Мозок, плацента, сітківка ока, нирки.	Володіє високою афінністю до глюкози, в основному експресується в нейронах, де є переважаючою ізоформою GLUT.
GLUT-4, (GTR4)	Скелетні, серцеві і гладенькі м'язи, адипоцити білої та коричневої жирової тканини.	Здійснює регульований інсуліном транспорт глюкози, залучений до субвезикулярної рециркуляції.
GLUT-5, (GTR5)	Мозок, сім'яники, скелетні м'язи, сітківці ока, нирки, ентероцити тонкого кишечника, адипоцитах.	Транспорт фруктози з просвіту тонкого кишечника.
GLUT-6, (GTR2, GLUT9)	Селезінка, головний мозок, лейкоцити периферійної крові.	Завдяки дилейциновій послідовності може бути залученим у субклітинний перерозподіл та субвезикулярну рециркуляцію.
GLUT-7, (GTR7)	Товстий та тонкий кишечник, печінка, сім'яники, простата.	Здійснює транспорт глюкози з ендоплазматичного ретикулу. Висока афінність до глюкози та фруктози.
GLUT-8, (GTR8, GLUTX1)	Сім'яники, плацента, бластоцити, мозок, м'язи, адипоцити.	Завдяки дилейциновій послідовності може бути залученим у субклітинний перерозподіл та субвезикулярну рециркуляцію.
GLUT-9, (GTR9, GLUTX)	Нирки, печінка, легені, скелетні та серцеві м'язи, лейкоцити.	Є важливим на ранньому етапі ембріогенезу.
GLUT-10, (GTR10)	Широко поширена у всіх тканинах, найбільше виражена у печінці та підшлунковій залозі.	Ушкодження гену для GLUT-10 запропоновано вважати одним із сприятливих факторів для виникнення ЦД 2 типу.
GLUT-11, (GTR11, GLUT10)	Скелетні та серцеві м'язи.	Інгібується фруктозою.
GLUT-12, (GTR12, GLUT8)	Скелетні та серцеві м'язи, тонкий кишечник, адипоцити, грудна залоза, плацента	Здійснює регульований інсуліном транспорт глюкози [21]
GLUT-13, (HMIT)	Головний мозок (гіпокампус, гіпоталамус), мозочок, ствол головного мозку, гліальні клітини та деякі нейрони)	H ⁺ /міоїнозитол котранспортер

та інтеграцію у клітинну мембрану — невідомо, однак виявлено, що даний механізм є інсуліно-незалежним.

GLUT-10 містить С-кінцеву послідовність, альтернативну до ди-лейцинової. Експресія даного транспортера в чутливих до інсуліну тканинах

(скелетних м'язах і серці), а також локалізація його гену на 20 хромосомі, поблизу генів, так званих “факторів ризику розвитку ЦД 2 типу”, вказують на можливість відігравати ним важливих функцій у виникненні та розвитку даного захворювання.

Крім того, в різних тканинах для більшості транспортерів GLUT існує декілька сплайсових варіантів, з різною функціональною специфікою. Так, у головному мозку відомі дві ізоформи GLUT-1 з молекулярними масами 45 та 55 кДа. GLUT-1 з мол. масою 45 кДа є характерною для нейроглії, а GLUT-1 з мол. масою 55 кДа локалізується в капілярах мозку і відповідає за транспорт глюкози через гематоенцефалічний бар'єр [38]. Дефіцит даної ізоформи спричиняє низьке надходження глюкози до клітин головного мозку, що, у свою чергу, може призводити до конвульсій (коли концентрація глюкози в мозку менша 60 мг/дл).

Велике різноманіття транспортерів глюкози з різними кінетичними та регуляторними властивостями, а також одночасна наявність декількох ізоформ в одному і тому ж типі клітин, зокрема у нейронах [38], або в білій жировій тканині (наприклад GLUT-1, GLUT-4, GLUT-5, GLUT-8, GLUT-12 і HMIT) свідчить про високу субстратну специфічність, особливості кінетичних характеристик та складні механізми регуляції їхньої активності.

Біологічна роль GLUT-4. Серед GLUT-транспортерів GLUT-4 є найбільш вивченим. Як уже

загадувалось, даний транспортер є інсулінонезалежним. За відсутності інсуліну основний пул GLUT-4 локалізується в мікровезикулах, поблизу ліпідного бішару клітинної мембрани чутливих до інсуліну клітин, зокрема, м'язових та адипоцитів (або апоцитів, жирових клітин). На поверхні клітини постійно наявні лише ~5% усіх молекул GLUT-4 клітини [32].

У відповідь на підвищення вмісту глюкози у крові, через GLUT-2 транспортер, який ще називають основним сенсором глюкози в кровотоці, відбувається збільшення її концентрації у β -клітинах підшлункової залози (клітинах Лангерганса). Це, у свою чергу, призводить до її швидкого фосфорилування під дією глюкокінази та наступної активації гліколізу в β -клітинах з утворенням — АТФ. Зростання концентрації АТФ у β -клітинах призводить до закриття АТФ-сенситивного K^+ каналу, що супроводжується накопиченням іонів K^+ в цитоплазмі та деполяризацією клітинної мембрани. Результатом такої деполяризації є відкриття потенціалзалежних Ca^{2+} каналів та відповідним надходженням Ca^{2+} у цитоплазму β -клітин. Ca^{2+} , у свою чергу, індукує екзоцитоз інсулінових мікровезикул та відповідне вивільнення інсуліну в кровотік (рис. 1)

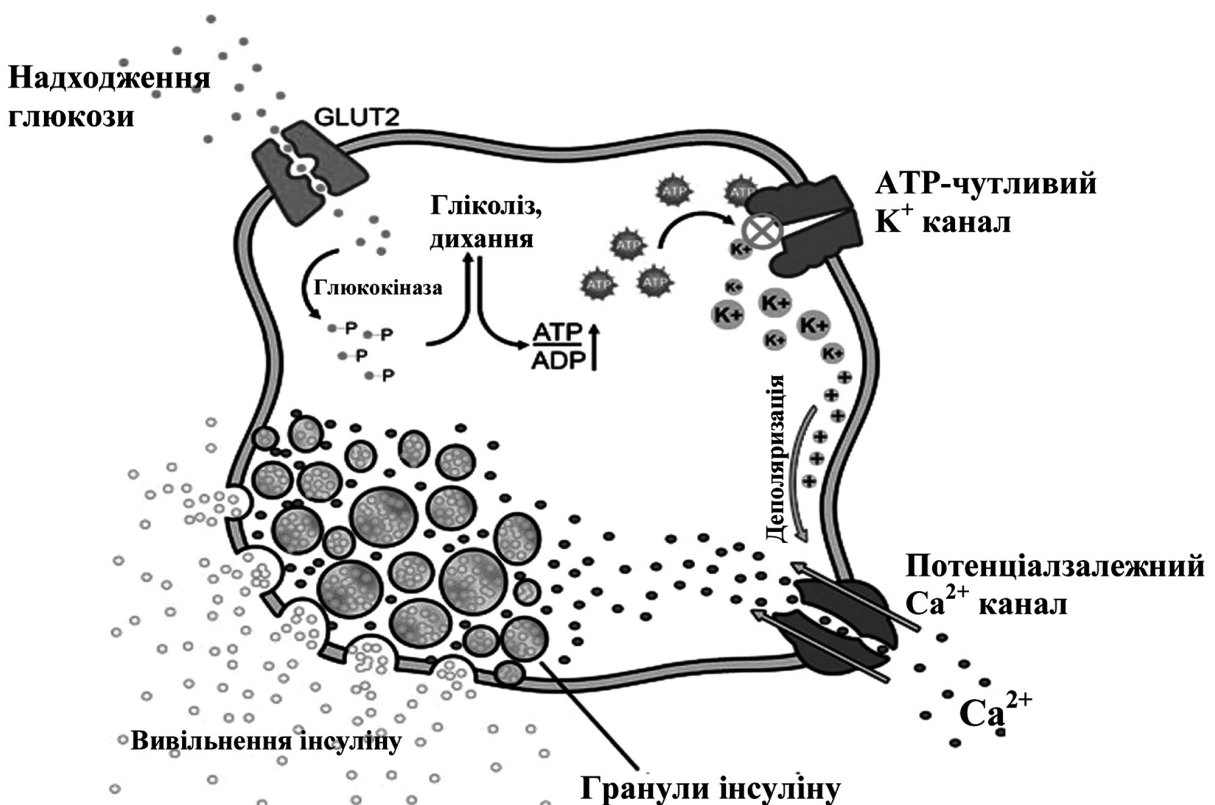


Рис. 1. Механізм вивільнення інсуліну β -клітинами підшлункової залози [35]

[35]. Слід також відмітити, що даний процес є залежним від концентрації глюкози, яка надходить у цитоплазму β -клітин. Крім того, у відповідь на тривале підвищення концентрації глюкози в кровотоці відбувається індукція експресії та відбувається зростання вмісту GLUT-2 у β -клітинах.

Інсулін, взаємодіючи з позаклітинними α -субодиницями димерної форми інсулінового рецептора (IR), призводить до конформаційних змін у β -субодиницях та трансфосфорилування їх цитоплазматичних ділянок, наслідком чого є активація тирозинкіназної активності рецептора [5]. Наслідком низки каскадних реакцій фосфорилування/дефосфорилування адаптерних протеїнів є транслокація та інтеграція мікровезикул з GLUT-4 у клітинну мембрану, що призводить до надходження глюкози з кровотоку у клітину, відповідно до градієнту її концентрації. Інсулін після взаємодії з IR може або від'єднуватись та знову поступати в кровотік, або зазнавати розщеплення після ендцитозу з залученням специфічної протеази — інсулізину. Виявлено, що більшість молекул інсуліну розщеплюється у клітинах печінки. Крім того показано, що молекула інсуліну розщеплюється в середньому через 71 хв після вивільнення β -клітинами [7, 30].

Унікальність GLUT-4-вмісних везикул забезпечується завдяки включенню у них протеїну — VAMP2 (асоційований з мембранами, везикулярний протеїн-2), який належить до надродини v-SNARE (вбудованих в мембрану везикул, чутливих до N-етилmaleїміду протеїнів) [5]. Сам процес транслокації VAMP2-збагачених GLUT-4-вмісних везикул із примембранної області до клітинної мембрани та наступна їхня інтеграція в мембрану до кінця не вивчені (рис. 2). Прийнято вважати, що IR, шляхом фосфорилування низки субстратів по залишках тирозину, може активувати два основні шляхи: 1) MAP-кіназний сигнальний шлях, або “ростовий” шлях (починається з активації SH2-вмісного адаптерного протеїну Grb2, який через SH3-домен забезпечує транслокацію та взаємодію з пролін-багатою послідовністю протеїну Sos, який, у свою чергу, забезпечує обмін гуанілових нуклеотидів (GDP/GTP) протеїну Ras та активує останній, що в кінцевому результаті призводить до активації MAP-кіназ, експресії низки генів, споріднених з клітинною проліферацією та апоптозом), та 2) шлях активації субстратів IR (IRS), або “метаболічний” шлях [37]. Виявлено, що фосфорилування IRS-1 та -2 по тирозинових залишках призводить до взаємодії з r85 регу-

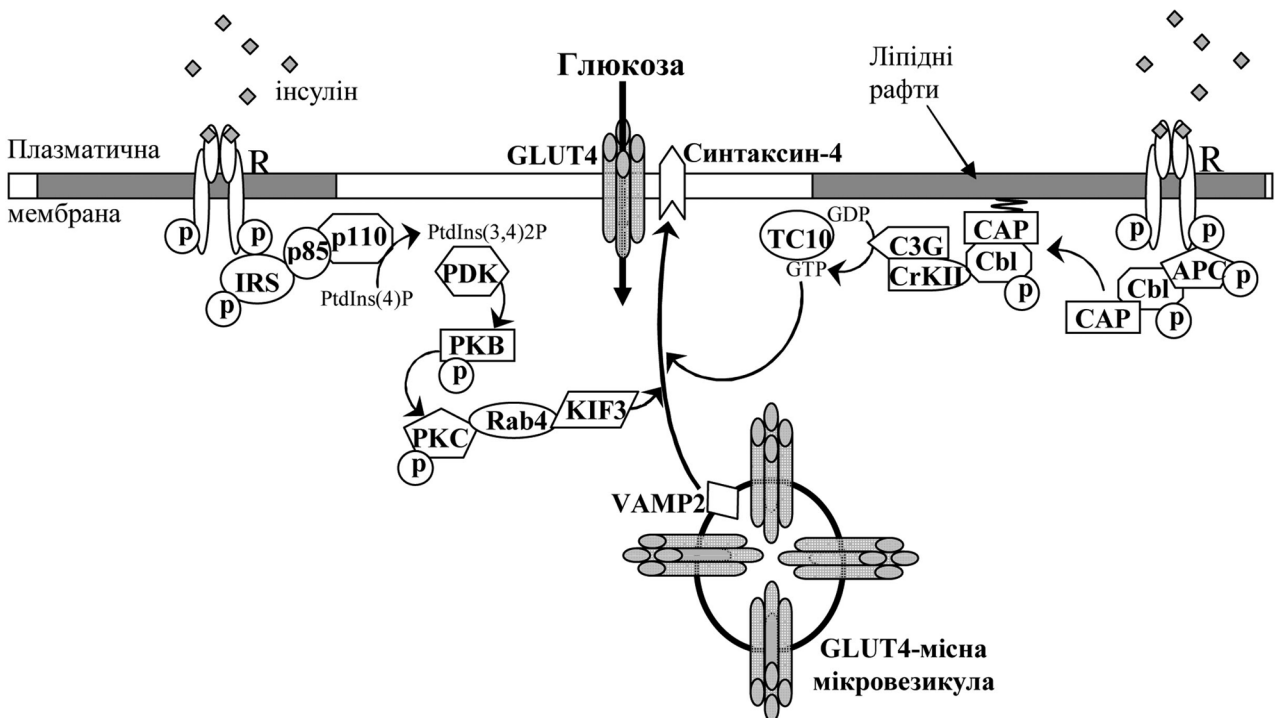


Рис. 2. Індуковані інсуліном механізми переміщення з примембранної області клітини GLUT-4-вмісних мікровезикул та наступної інтеграції у плазматичну мембрану [22, 33]

ляторною субодиноцею фосфатидилінозитол 3'-кінази (PI3'K), що, у свою чергу, призводить до її транслокації у примембранну область та взаємодії з p100 каталітичною субодиноцею та активації PI3'K [24].

PI3'K проявляють подвійну ензиматичну специфічність, і за хімічною природою є ліпіда протеїнкіназами. Використовуючи фосфатидилінозитолі (PtdIns) різної природи, зокрема фосфорильовані у 4 та 4 і 5 положеннях (PtdIns(4)P і PtdIns(4,5)P₂) як субстрат, PI3'K фосфорилує їх у 3'-положенні, з утворенням PtdIns(3,4)P₂ і PtdIns(3,4,5)P₃. Фосфорильовані PtdIns в 3'-положенні виконують роль мембранного якоря низки цитоплазматичних протеїнів, зокрема фосфоінозитол-залежної кінази-1 (PDK-1), яка, у свою чергу, фосфорилує та активує протеїн кіназу B (PKB/Akt), через яку реалізується велика кількість інсулінозалежних сигнальних та метаболічних шляхів. Так показано, що PKB/Akt може активувати РКС, яка забезпечує взаємодію між малим GTP-зв'язуючим протеїном Rab4 (~21 кДа), який належить до родини Rab GTPаз, надродини Ras-протеїнів та молекулярними "моторами" — кінезинами (KIF5b та KIF3), що і забезпечує переміщення GLUT-4-вмісних везикул у клітинну мембрану (рис. 2) [22, 33]. Безпосередня асоціація GLUT-4-вмісних везикул з клітинною мембраною відбувається за участю VAMP2 та синтаксину-4 (плазматичний t-SNARE протеїн) [5].

Ще одним механізмом інтеграції GLUT-4 транспортерів у клітинну мембрану, незалежним від активації PI3'K, є інсулін-індукована активація протеїну c-Cbl (E3-убіквітин-лігази) [23]. Так виявлено, що активований IR може фосфорилувати по залишках тирозину протеїн APS (адаптерний протеїн з плекстрин-гомологічним та SH2-місним доменом). Фосфорильований APS, у свою чергу, забезпечує транслокацію адаптерного протеїну Cbl з цитозолу у примембранну область, де останній зазнає фосфорилування під дією IR. Фосфорильований Cbl формує комплекс з Cbl-асоційованим протеїном (CAP) та переміщується у райони ліпідних рафтів клітини, де, завдяки взаємодії CAP з флотеліном, утворюється потрійний комплекс. Даний комплекс індукує переміщення до рафтів протеїну CrKII (містить один SH2 та два SH3 домени), який взаємодіє з протеїном C3G — стимулятором обміну гуанілових нуклеотидів для надродини Ras-протеїнів. У ліпідних рафтах C3G специфічно активує малий

GTP-зв'язуючий протеїн TC10 (~21 кДа), який належить до Rho родини GTPаз, надродини Ras-протеїнів. TC10, у свою чергу, залучений у ремоделювання актинового цитоскелету та індукцію складання екзоцитозного комплексу (рис. 2) [5, 23].

Слід також відмітити, що з β-субодиноцями IR може взаємодіяти адипоцитокін — вісфатин, який частково проявляє властивості інсуліну: може індукувати тирозинкіназну активність рецептора та призводити до фосфорилування низки адаптерних протеїнів. Крім того, вісфатин частково нормалізує резистентність IR до інсуліну та знижує концентрацію глюкози в кровотоці. В той же час виявлено, що вісфатин може експресуватись також мезангіальними клітинами нирок та залучений в розвиток патологічних змін, характерних діабетичній нефропатії [39].

Глюкоза, яка транспортується у цитоплазму клітини, відразу фосфорилується за участю глюкокінази (у печінці) та гексокінази в інших типах тканин до глюкозо-6-фосфату, що запобігає її виходу з клітини. Глюкозо-6-фосфат, як відомо, в подальшому вступає у процес гліколізу, чи полімеризується у глікоген. Крім того, утворення глюкозо-6-фосфату зменшує концентрацію глюкози в цитоплазмі клітини, що забезпечує її подальше надходження з кровотоку.

У випадку нормалізації концентрації глюкози та інсуліну в кровотоці відбувається ендоцитоз GLUT-4 транспортерів з поверхні клітини у вигляді мікровезикул. Даний процес є подібним до інтерналізації та ендоцитозу більшості рецепторів, транспортерів та низки інших протеїнів з поверхні клітини. У випадку GLUT-4 транспортерів даний процес відбувається за участю стимульованого клатрином ендоцитозу, або шляхом інвагінації клітинної мембрани за участю протеїну — динаміну [32].

Цікавим є факт транслокації та інтеграції GLUT-4 транспортерів у плазматичну мембрану в скелетних м'язових клітинах після фізичного навантаження у пацієнтів хворих на ЦД 2 типу, і відповідно, часткової нормалізації концентрації глюкози в кровотоці. Механізми даної транслокації GLUT-4 до кінця не досліджені. Крім того погляди дослідників щодо транслокації GLUT-4 у скелетних м'язових клітинах при навантаженні розділились: одні вважають, що даний процес відбувається в результаті покращення чутливості IR до інсуліну, а інші вважають, що даний механізм є інсулінонезалежним [19]. В той же час

використання даної особливості функціонування GLUT-4 у м'язових клітинах є перспективним підходом для нормалізації біохімічних та фізіологічних показників пацієнтів, хворих на ЦД 2 типу.

Таким чином порушення функціонування будь-якої ланки складного процесу індукції екзота ендоцитозу GLUT-4 транспортерів, поряд із порушеннями взаємодії інсуліну з IR, буде призводити до втрати інсулін-індукованого поглинання глюкози з кровотоку, резистентності до інсуліну та розвитку ЦД 2 типу.

Клітини з інсулінонезалежними транспортерами глюкози. В організмі людини наявні типи клітини, надходження глюкози в яких є слабо регульованим і не залежить від інсуліну. Крім того деякі клітини можуть містити одночасно декілька різних типів ізоформ GLUT транспортерів, в тому числі як інсулінонезалежні, так і змішаного типу, а також можуть експресувати одночасно транспортери SGLT та GLUT.

Серед низки різних типів клітин з “слабкою” регуляцією надходження глюкози в цитоплазмі з кровотоку особливої уваги заслуговують ендотеліальні клітини судин, оскільки саме від них залежать трофічні функції усього організму. Було виявлено, що ендотеліальні клітини судин одночасно містять низку ізоформ GLUT (GLUT-1 — -5), а також SGLT-1. Крім того було встановлено, що ізоформи GLUT-1 — -5 в основному локалізовані в зоні клітинних міжклеточних контактів на відміну від SGLT-1, який рівномірно розміщений у площині клітинної мембрани. Виявлено також, що за умов довготривалого експериментального діабету у ендотелії щурів достовірно відбувається зниження вмісту GLUT-1, -3, -4 та -5, та зростання вмісту GLUT-2 [8]. Слід також відмітити, що транспорт глюкози через гематоенцефалічний, гематоретинальний та плацентарний бар'єри здійснюється переважно GLUT-1 транспортером ендотелію чи епітелію. Лише в ендотелії гематоенцефалічного бар'єру додатково виявлено незначний вміст GLUT-8 та GLUT-9 транспортерів, однак у відповідь на зростання концентрації глюкози у кровотоці відбувалось збільшення вмісту лише GLUT-1 [6].

Найбільшої небезпеки для організму за умов втрати контролю рівня глюкози в кровотоці є випадки, коли порушення, спричинені “слабкою” регуляцією надходження глюкози в ендотелій, накладаються на відповідні патологічні зміни у

інших типах клітин та тканин в цілому. До найбільш чутливих до високої концентрації глюкози в кровотоці відносяться такі тканини та органи: нервова, сітківка ока та нирки.

У нейронах головного мозку основним транспортером глюкози є GLUT-3, а GLUT-1, крім гематоенцефалічного бар'єру, здійснює транспорт глюкози у клітинах нейроглії [10]. У периферичній нервовій системі на ранніх етапах досліджень було виявлено подібну картину: GLUT-1 локалізований у ендотелії дрібних судин ендоневрію та периневрію, а GLUT-3 — у аксонах. Крім того, клітини Швана містять як GLUT-1, так і GLUT-3 [9]. Однак пізніше було встановлено, що у клітинах Швана та аксонах сідничного нерва експресується також ізоформа GLUT-5, вміст якого достовірно збільшувався за умов експериментального ЦД у щурів [28].

У сітківці ока, подібно до головного мозку, регуляція надходження глюкози через гематоретинальний бар'єр здійснюється за допомогою GLUT-1. Причому, транспортер GLUT-1 локалізований як у ендотелії судин, так і в перичитах — клітинах, які залучені до регуляції проникності ендотелію та скоротливості капілярів. Крім того, GLUT-1 є основним транспортером більшості клітин сітківки ока, за винятком внутрішнього синаптичного шару, для якого основним є транспортер GLUT-3 [18, 27]. Подібно до головного мозку, у відповідь на зростання концентрації глюкози в кровотоку, у ендотелії судин сітківки ока відбувається зростання експресії GLUT-1.

У мезангіальних клітинах та подоцитах — основних типах клітин, залучених до фільтрування первинної сечі в клубочках нирок, а також більшості клітин, які беруть участь в процесах фільтрування та реабсорбції поживних сполук з сечі, основними транспортерами глюкози є GLUT-1 та GLUT-4. Однак основний транспорт глюкози відбувається за участю саме GLUT-1, причому експресія даного транспортера відбувається не лише у відповідь на зростання концентрації глюкози в крові, а й за зростання тиску крові в клубочках нирок [11]. Крім того виявлено, що низка клітин, зокрема, епітеліальні клітини клубочка крім GLUT-1 та GLUT-4 містять ще й GLUT-3, а епітеліальні клітини мікротрубочок та подоцити додатково експресують транспортер GLUT-8 [26].

Таким чином, вважають, що саме одночасне порушення регуляції надходження глюкози в клітини ендотелію судин, нервові клітини, а

також клітини нирок та сітківки ока і є першо-причиною подальшого розвитку патологічних змін у даних клітинах та тканинах, що в кінцевому результаті призводить до виникнення та розвитку діабетичних ускладнень (ангіопатій, нейропатії, ретинопатії та нефропатії).

ЛІТЕРАТУРА

1. Филиппова Н.А., Каминская Л.Ю., Михаленкова И.В. Продукты NO-синтазной активности и воспаление дыхательных путей: метаболизм, патофизиологическая роль при аллергических заболеваниях // *Клин. лаб. диагностика*. — 2006. — № 8. — С. 3–9.
2. Agabiti-Rosei E. From macro- to microcirculation: benefits in hypertension and diabetes // *J. Hypertens. Suppl.* — 2008. — Vol. 26, № 3. — P. S15–S19.
3. Atkins R.C., Zimmet P. Diabetic kidney disease: act now or pay later. Saudi // *J. Kidney Dis. Transpl.* — 2010. — Vol. 21, № 2. — P. 217–221.
4. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism // *Diabetes*. — 2005. — Vol. 54, № 6. — P. 1615–1625.
5. Chang L., Chiang S.H., Saltiel A.R. Insulin signaling and the regulation of glucose transport // *Mol. Med.* — 2004. — Vol. 10, № 7–12. — P. 65–71.
6. Cura A.J., Carruthers A. Acute modulation of sugar transport in brain capillary endothelial cell cultures during activation of the metabolic stress pathway // *J. Biol. Chem.* — 2010. — Vol. 285, № 20. — P. 15430–15439.
7. Duckworth W.C., Bennett R.G., Hamel F.G. Insulin degradation: progress and potential // *Endocr. Rev.* — 1998. — Vol. 19, № 5. — P. 608–624.
8. Gaudreault N., Scriven D.R., Moore E.D. Characterisation of glucose transporters in the intact coronary artery endothelium in rats: GLUT-2 upregulated by long-term hyperglycaemia // *Diabetologia*. — 2004. — Vol. 47, № 12. — P. 2081–2092.
9. Glucose transporters in rat peripheral nerve: paranodal expression of GLUT1 and GLUT3 / P. Magnani, P.V. Cherian, G.W. Gould, D.A. Greene, A.A. Sima, 3rd. F.C. Brosius // *Metabolism*. — 1996. — Vol. 45, № 12. — P. 1466–1473.
10. Glucose transporters regulation on ischemic brain: possible role as therapeutic target / M. Espinoza-Rojo, K.I. Iturralde-Rodríguez, M.E. Cháñez-Cárdenas, M.E. Ruiz-Tachiquín, P. Aguilera // *Cent. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.* — 2010. — Vol. 10, № 4. — P. 317–325.
11. Gnudi L., Thomas S.M., Viberti G. Mechanical forces in diabetic kidney disease: a trigger for impaired glucose metabolism // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2007. — Vol. 18, № 8. — P. 2226–2232.
12. Hebert D.N., Carruthers A. Glucose transporter oligomeric structure determines transporter function. Reversible redox-dependent interconversions of tetrameric and dimeric GLUT1 // *J. Biol. Chem.* — 1992. — Vol. 267, № 33. — P. 23829–23838.
13. Hediger M.A., Rhoads D.B. Molecular physiology of sodium-glucose cotransporters // *Physiol. Rev.* — 1994. — Vol. 74, № 4. — P. 993–1026.
14. Henderson P.J. The 12-transmembrane helix transporters // *Curr. Opin. Cell Biol.* — 1993. — Vol. 5, № 4. — P. 708–721.
15. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells / F. Cosentino, K. Hishikawa, Z.S. Katusic, T.F. Luscher // *Circulation*. — 1997. — Vol. 96, № 1. — P. 25–28.
16. Hruz P.W., Mueckler M.M. Structural analysis of the GLUT1 facilitative glucose transporter // *Mol. Membr. Biol.* — 2001. — Vol. 18, № 3. — P. 183–193.
17. Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets / M.A. Potenza, S. Gagliardi, C. Nacci, M.R. Carratu', M. Montagnani // *Curr. Med. Chem.* — 2009. — Vol. 16, № 1. — P. 94–112.
18. Expression patterns for glucose transporters GLUT1 and GLUT3 in the normal rat lens and in models of diabetic cataract / B.R. Merriman-Smith, A. Krushinsky, J. Kistler, P.J. Donaldson // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* — 2003. — Vol. 44, № 8. — P. 3458–3466.
19. Frøsig C., Richter E.A. Improved insulin sensitivity after exercise: focus on insulin signaling // *Obesity (Silver Spring)*. — 2009. — Vol. 17, Suppl. 3. — P. S15–S20.
20. Joost H.G., Thorens B. The extended GLUT-family of sugar/polyol transport facilitators: nomenclature, sequence characteristics, and potential function of its novel members // *Mol. Membr. Biol.* — 2001. — Vol. 18, № 4. — P. 247–256.
21. Identification of a novel glucose transporter-like protein-GLUT-12 / S. Rogers, M.L. Macheda, S.E. Docherty, M.D. Carty, M.A. Henderson, W.C. Soeller, E.M. Gibbs, D.E. James, J.D. Best // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* — 2002. — Vol. 282, № 3. — P. E733–E738.
22. Insulin-induced GLUT4 translocation involves protein kinase C-lambda-mediated functional coupling between Rab4 and the motor protein kinesin / T. Imamura, J. Huang, I. Usui, H. Satoh, J. Bever, J.M. Olefsky // *Mol. Cell. Biol.* — 2003. — Vol. 23, № 14. — P. 4892–4900.
23. Insulin-stimulated GLUT4 translocation requires the CAP-dependent activation of TC10 / S.H. Chiang, C.A. Baumann, M. Kanzaki, D.C. Thurmond, R.T. Watson, C.L. Neudauer, I.G. Macara, J.E. Pessin, A.R. Saltiel // *Nature*. — 2001. — Vol. 410, № 6831. — P. 944–948.
24. IRS-1 activates phosphatidylinositol 3'-kinase by associating with src homology 2 domains of p85 / M.G. Jr. Myers, J.M. Backer, X.J. Sun, S. Shoelson, P. Hu, J. Schlessinger, M. Yoakim, B. Schaffhausen, M.F. White // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1992. — Vol. 89, № 21. — P. 10350–10354.
25. King H., Aubert R.E., Herman W.H. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections // *Diabetes Care*. — 1998. — Vol. 21, № 9. — P. 1414–1431.
26. Localization of the GLUT8 glucose transporter in murine kidney and regulation in vivo in nondiabetic and diabetic conditions / M. Schiffer, K. Susztak, M. Ranelletta, A.C. Raff, E.P. Böttinger, M.J. Charron // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* — 2005. — Vol. 289, № 1. — P. F186–F193.
27. Mantych G.J., Hageman G.S., Devaskar S.U. Characterization of glucose transporter isoforms in the adult and developing human eye // *Endocrinology*. — 1993. — Vol. 133, № 2. — P. 600–607.
28. Overexpression of glucose transporter protein 5 in sciatic nerve of streptozotocin-induced diabetic rats / T. Asada, S. Takakura, T. Ogawa, M. Iwai, M. Kobayashi // *Neurosci. Lett.* — 1998. — Vol. 252, № 2. — P. 111–114.
29. Pacher P., Beckman J.S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease // *Physiol. Rev.* — 2007. — Vol. 87, № 1. — P. 315–424.
30. Patterns of quantitative sensation testing of hypoesthesia and hyperalgesia are predictive of diabetic polyneuropathy: a study of three cohorts. Nerve growth factor study group / P.J. Dyck, P.J. Dyck, T.S., Larson P.C. O'Brien, J.A. Velosa // *Diabetes Care*. — 2000. — Vol. 23, № 4. — P. 510–517.
31. QLS motif in transmembrane helix VII of the glucose transporter family interacts with the C-1 position of D-glucose

and is involved in substrate selection at the exofacial binding site / M.J. Seatter, S.A. De la Rue, L.M. Porter, G.W. Gould // *Biochemistry*. — 1998. — Vol. 37, № 5. — P. 1322–1326.

32. Ready, set, internalize: mechanisms and regulation of GLUT4 endocytosis / C.N. Antonescu, M. Foti, N. Sauvonnnet A. Klip // *Biosci. Rep.* — 2009. — Vol. 29, № 1. — P. 1–11.
33. Shepherd P.R. Mechanisms regulating phosphoinositide 3-kinase signalling in insulin-sensitive tissues // *Acta Physiol. Scand.* — 2005. — Vol. 183, № 1. — P. 3–12.
34. Thorens B. Glucose transporters in the regulation of intestinal, renal, and liver glucose fluxes // *Am. J. Physiol.* — 1996. — Vol. 270, № 4, Pt. 1. — P. G541–G553.
35. Transcriptional regulation of glucose sensors in pancreatic beta cells and liver / S.S. Im, S.Y. Kim, H.I. Kim, Y.H. Ahn // *Curr. Diabetes Rev.* — 2006. — Vol. 2, № 1. — P. 11–18.
36. Uldry M., Thorens B. The SLC2 family of facilitated hexose and polyol transporters // *Pflugers Arch.* — 2004. — Vol. 447, № 5. — P. 480–489.
37. Van den Berghe G. How does blood glucose control with insulin save lives in intensive care? // *J. Clin. Invest.* — 2004. — Vol. 114, № 9. — P. 1187–1195.
38. Vannucci S.J., Maher I.A., Simpson I.A. Glucose transporter proteins in brain: delivery of glucose to neurons and glia. // *Glia*. — 1997. — Vol. 21, № 1. — P. 2–21.
39. Visfatin is upregulated in type-2 diabetic rats and targets renal cells / Y.S. Kang, H.K. Song, M.H. Lee, G.J. Ko, J.Y. Han, S.Y. Han, K.H. Han, H.K. Kim, D.R. Cha // *Kidney Int.* — 2010. — Vol. 78, № 2. — P. 170–181.
40. Wilkinson-Berka J.L., Miller A.G. Update on the treatment of diabetic retinopathy // *Scientific World Journal.* — 2008. — Vol. 8. — P. 98–120.

ТРАНСПОРТЕРЫ ГЛЮКОЗЫ: ПРЕДПОСЫЛКИ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ДИАБЕТИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ

В.Р. Дрель

В обзоре рассмотрена биологическая роль основных типов транспортеров глюкозы человека. Представлены основные характеристики и локализация GLUT-транспортеров. Детально проанализирована структурная организация и основные механизмы регуляции функционирования GLUT-4 транспортера. Обобщены результаты исследований относительно роли GLUT-транспортеров при развитии основных диабетических осложнений.

GLUCOSE TRANSPORTERS: PREDICTORS OF DIABETIC COMPLICATIONS

V.R. Drel

In the review described the biological role of the main types of human glucose transporters. The main characteristics and localization of GLUT-transporters are presented. It is analysed in detail structural organization and main mechanisms of regulation of GLUT-4 transporter. Summarized the results of the role of GLUT-transporters in the development of main diabetic complications.

УДК 616.61-008.9-036.12

В.В. Вельков

НОВЫЕ МЕЖДУНАРОДНЫЕ КРИТЕРИИ ИНФАРКТА МИОКАРДА И ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ ТРОПОНИНЫ: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ И НОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ

ЗАО “ДИАКОН”,

г. Пущино, Московская область, Россия

Повышение эффективности кардиомаркеров и совершенствование диагностических критериев инфаркта миокарда. В 1979 г Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) предложила стандартизованные диагностические критерии инфаркта миокарда (ИМ) [40]. Причинами этого были большое разнообразие клинических симптомов у пациентов, поступающих с подозрением на острый коронарный синдром (ОКС), и часто встречающиеся неоднозначные данные ЭКГ. Для решения этих проблем ВОЗ рекомендовала, что критериями установленного ИМ, являются четко трактуемые аномальные изменения на ЭКГ и/или четкое “изменение сывороточного фермента”. Критериями вероятного ИМ рекомендовалось считать наличие четких серийных изменений на ЭКГ, персистирующих более 24 ч “с или без” наличия четких изменений активности ферментов [40]. Конкретных указаний, касающихся “сывороточных ферментов” и их пограничного уровня, не было. Выбор был предоставлен врачам. И, как правило, он касался измерения общей активности креатинкиназы (КК), КК МБ, а позже — ее массы. Ключевым моментом в дальнейшей эволюции критериев ИМ стала разработка тестов на кардиальные тропонины. Первые исследования показали, что повышенный циркулирующий уровень сТnТ и сТnI действительно сильно связан с повреждениями миокарда [6]. Более того, оказалось, что от 12% до 39% пациентов, поступивших с подозрением на ИМ, являлись “отрицательными по массе КК МБ”, но “положительными по тропонинам”. Мета-анализ многочисленных проспективных исследований показал, что “КК МБ отрицательные” и одновременно “сТn положительные” пациенты имеют высокий риск неблагоприятных исходов, притом даже в отсутствие повторных ишемических событий. Таким образом, стало