Биомедицинская химия, 2018 том 64, вып. 2, с. 195-200.

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

АПОЛИПОПРОТЕИН А-I СТИМУЛИРУЕТ СЕКРЕЦИЮ ИНСУЛИНА И МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ОСТРОВКАМИ ЛАНГЕРГАНСА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И.Ф. Усынин[1]*, О.Н. Потеряева[1], Г.С. Русских[1], А.В. Зубова[2], К.Ю. Бойко[2], Л.М. Поляков[1]

[1]НИИ биохимии,
630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2; эл. почта: ivan.usynin@niibch.ru
[2]Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск

Развитие сахарного диабета (СД) 2 типа сопровождается нарушением липидного обмена. На это указывает возрастание в сыворотке крови концентрации атерогенных фракций липопротеинов очень низкой (ЛПОНП) и низкой плотности (ЛПНП), триглицеридов и аполипопротеина В. Напротив, уровень антиатерогенных липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и аполипопротеина А-I (апоА-I) у этих больных снижается. Для изучения влияния обнаруженных метаболических изменений на секрецию инсулина *in vitro* мы провели исследования на островках Лангерганса, изолированных из поджелудочной железы крыс. Установлено, что инкубация островков в присутствии сыворотки больных ожирением и больных СД 2 типа в стадии декомпенсации приводит к снижению секреции инсулина в 2,4 и 5,0 раз, соответственно. Добавление в инкубационную среду ЛПВП, напротив, сопровождается возрастанием секреции инсулина в 3,4 раза. Подобный эффект обнаружен в присутствии апоА-I, который является основным белковым компонентом ЛПВП. Под влиянием апоА-I также значительно возрастала (в 10 раз) внеклеточная активность матриксных металлопротеиназ (ММП). При добавлении к островкам ЛПОНП и ЛПНП секреция инсулина и активность ММП не изменялась. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ЛПВП и апоА-I являются важными факторами, регулирующими секрецию инсулина β-клетками и активность ММП в островках Лангерганса.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, аполипопротеин А-I, инсулин, матриксные металлопротеиназы, островки Лангерганса

DOI: 10.18097/PBMC20186402195

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) 2-го типа является наиболее распространенной формой диабета и характеризуется нарушением не только углеводного, но и липидного обмена, включая значительное снижение уровня липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), обладающих антиатерогенными свойствами [1]. Как известно, липопротеины плазмы крови, помимо участия в транспорте липидов, оказывают регуляторное влияние на функции различных клеток организма [2]. Регуляторные эффекты ЛПВП связывают с наличием на поверхности липопротеиновой частицы белкового компонента – аполипопротеина А-I (апоА-I). В макрофагах апоА-I стимулирует секрецию простагландина E_2 [3] и апоЕ [4]. Взаимодействие апоА-I с АТР-зависимым кассетным транспортером (ABCA1) на плазматической мембране фибробластов приводит к активации внутриклеточных сигнальных путей, включая Cdc42 [5].

Ранее нами было показано, что сам апоА-I способен стимулировать биосинтез белка в макрофагах, а в комплексе со стероидными гормонами – биосинтез белка и ДНК в гепатоцитах [6]. Добавление апоА-I к первичной культуре клеток костного мозга повышает секрецию матриксных металлопротеиназ (ММП) [7] и активирует пролиферацию прогениторных клеток гранулоцитарного и моноцитарного ростка [8].

Целью настоящей работы было изучение влияния сыворотки крови больных СД 2 типа, липопротеинов плазмы крови и их белковых компонентов на секрецию инсулина и ММП островками Лангерганса, изолированными из поджелудочной железы крыс.

МЕТОДИКА

Сыворотка была получена из крови больных СД 2 типа, обследованных в клинике НИИ экспериментальной и клинической медицины и городской клинической больницы №1 (Новосибирск) и давших информированное согласие на участие в данном исследовании. Взятие крови из локтевой вены проводили в утренние часы натощак.

Всего обследовано 82 пациента (34 мужчины, 48 женщин), средний возраст которых составил 63±4 года. Диагноз СД 2 типа был поставлен на основании анамнеза заболевания, клинической картины и биохимического исследования в соответствии с критериями Комитета экспертов ВОЗ по сахарному диабету 1999 года. Контрольную группу составили 25 практически здоровых людей, которые были сопоставимы по возрасту и полу с больными исследуемых групп, и давших информированное согласие на участие в данном исследовании. Относительную массу тела оценивали по индексу Кетле (ИК). Согласно данному критерию, в группе обследуемых больных нормальную массу тела (ИК=20-25) имели 6 человек, избыточную массу тела (ИК=25-30) – 46 человек, ожирение (ИК>30) – 30 человек.

Экспериментальная часть работы была выполнена на 12 крысах-самцах линии Wistar массой 180-200 г,

* - адресат для переписки

полученных из вивария ЦНИЛ Новосибирского государственного медицинского университета. Исследования проводили в соответствии с требованиями "Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных" (Приказ Минздрава Российской Федерации №267 от 19.06.2003). Островки Лангерганса выделяли из поджелудочной железы крыс седиментационным методом [9]. Изолированную железу измельчали на мелкие кусочки ножницами и инкубировали 20 мин при 37°С в 5 мл раствора Кребса-Рингера, содержащего 0,1% коллагеназу ("Calbiochem", США). Полученную диспергированную ткань разводили до 20 мл холодным раствором Кребса-Рингера, переносили в коническую пробирку и оставляли на 1 мин для осаждения островков при 1 *g*. Надосадочную жидкость удаляли с помощью шприца, а осадок ресуспендировали в растворе Кребса-Рингера. Данную процедуру повторяли несколько раз, пока надосадочная жидкость не становилась прозрачной. Полученный осадок разводили в растворе Кребса-Рингера и переносили в чашку Петри. Островки, имеющие ровные края и диаметр около 1 мм, отбирали под стереомикроскопом Stemi 2000C ("Carl Zeiss", Германия) с помощью стеклянной палочки. В каждую инкубационную пробу вносили по 10 изолированных островков Лангерганса.

Фракции липопротеинов выделяли из плазмы крови человека методом изоплотностного ультрацентрифугирования в растворе KBr [10] при 105000 *g* на центрифуге Optima L-90K ("Beckman Coulter", США) с использованием ротора 70.1 Ti. Полученные фракции липопротеинов диализовали против фосфатно-солевого буфера (ФСБ) (1,7 мМ K_2HPO_4; 5,2 мМ Na_2HPO_4; 150 мМ NaCl; pH 7,4) при 4°С в течение 24 ч. АпоА-I и апо В очищены путём аффинной хроматографии [11].

В сыворотке крови определяли содержание инсулина ("Monobind Inc.", США), проинсулина ("BioVender", Чехия) и С-пептида ("DRG International Inc", США). Для оценки инсулинорезистентности рассчитывали индекс HOMA-IR (homeostasis model assessment-insulin resistance) по формуле: индекс HOMA-IR=(инсулин(мкЕд/мл)×глюкоза(ммоль/л))/22,5. Содержание апоА-I и апоВ определяли с помощью твёрдофазного иммуноферментного анализа с использованием антител, полученных по методу, описанному нами ранее [11].

В инкубационной среде островков Лангерганса определяли содержание инсулина ("Shibayagi", Япония) и активность ММП. Активность ММП определяли по методу [12], используя в качестве флуоресцентного субстрата MCA-Pro-Leu-Gly-Leu-DpA-Ala-Arg-NH_2 ("Calbiochem"), где MCA – метилкумариламид. С помощью данного субстрата выявляется общая активность ММП-2 (желатиназа) и ММП-7 (матрилизин). Образцы инкубировали в течение 60 мин при 37°С в 50 мМ трис-HCl буфере (pH 7,5), содержащем 0,15 М NaCl, 10 мМ $CaCl_2$, 0,05% Brij-35 и 1,25 мкМ субстрат. Реакцию останавливали добавлением к 0,22 мл инкубационной смеси 2 мл 10 мМ ЭДТА. Активность фермента выражали в мкмоль MCA/л в час. Измерения проводили на спектрофлуориметре "Shimadzu RF-5301 PC" (Япония) в ЦКП "Спектрометрические измерения" НИИ биохимии (Новосибирск) при длине волны возбуждения 325 нм и эмиссии 393 нм.

Концентрацию глюкозы, фруктозамина, гликированного гемоглобина (HbA_{1C}), триглицеридов (ТГ) и холестерина измеряли на биохимическом анализаторе Konelab ("Thermo LabSystems", США). Диск-электрофорез липопротеинов сыворотки крови человека проводили в полиакриламидном геле. Процентное содержание липопротеинов рассчитывали после элюирования фракций 0,25% раствором тритона Х-100.

Полученные результаты статистически обрабатывали в программе "Statistica 6.0" ("StatSoft") методами непараметрической статистики (*U* критерий Манна-Уитни и коэффициент ранговой корреляции Спирмена). Различия между группами считали статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены результаты исследования биохимических маркеров СД 2 типа в сыворотке крови людей. Видно, что у больных, по сравнению с группой контроля, содержание в крови глюкозы было выше в 2,0 раза, фруктозамина – в 1,2 раза, инсулина – в 3,7 раза, проинсулина – в 1,9 раза, С-пептида – в 5,7 раза (табл. 1). Процентное содержание гликированного гемоглобина (HbA_{1C}), то есть гемоглобина, необратимо связанного с глюкозой, возрастало у больных СД 2 типа в 2,0 раза. Индекс инсулинорезистентности (HOMA-IR) в группе больных превышал контрольные значения в 4,7 раза (табл. 1).

Таблица 1. Изменение показателей углеводного обмена в сыворотке крови больных СД 2 типа

Показатели	Содержание показателей углеводного обмена в сыворотке крови групп:		p
	Контрольная группа (n=30)	Больные СД 2 типа (n=82)	
Глюкоза, ммоль/л	4,2±0,4	8,7±0,4	<0,001
HbA_{1C}, %	4,01±0,82	8,21±0,25	<0,001
Фруктозамин, мкмоль/л	246,5±12,0	307,1±13,4	<0,05
Инсулин, мкЕд/мл	5,9±0,6	22,2±2,1	<0,001
Проинсулин, пмоль/л	2,6±1,2	5,0±0,4	<0,05
С-пептид, нг/мл	0,71±0,08	4,02±0,31	<0,001
Индекс HOMA-IR	1,8±0,8	8,5±0,9	<0,001

Наряду с изменениями показателей углеводного обмена у больных СД 2 типа отмечены значительные нарушения липидного обмена. У больных обнаружено увеличение содержания триглицеридов в сыворотке крови и в ЛПВП (α-триглицериды) в 2,7 и 4,0 раза, соответственно (табл. 2). Высокое содержание триглицеридов в составе ЛПВП может оказывать негативное влияние на функции ЛПВП, связанные с транспортом холестерина из периферических тканей в печень. Кроме того, активация процессов окисления и гликирования при развитии метаболического синдрома и СД 2 типа сопровождается структурными изменениями в ЛПВП, приводящими к появлению у них провоспалительных и проатеросклеротических свойств [13].

Анализ спектра липопротеинов в сыворотке крови с помощью диск-электрофореза в полиакриламидном геле выявил увеличение доли атерогенных фракций липопротеинов в группе больных СД 2 типа: по сравнению с контрольной группой процентное содержание ЛПОНП и ЛПНП увеличивалось на 42% и 15% соответственно. Напротив, содержание антиатерогенных фракций липопротеинов снижалось: $ЛПВП_2$ – на 56%, а $ЛПВП_3$ – на 13% (табл. 3). По содержанию общего холестерина в сыворотке крови и холестерина в ЛПВП (α-холестерин) статистически значимых различий между группами не обнаружено. Однако индекс атерогенности в группе больных СД 2 типа возрастал по сравнению с контролем в 1,8 раза, что связано со значительным снижением уровня ЛПВП в сыворотке крови больных (табл. 3).

В настоящее время доказана роль избыточной массы тела как независимого фактора риска развития СД 2 типа [14]. Согласно нашим исследованиям, в группе больных с избыточной массой тела индекс Кетле положительно коррелировал с уровнем ЛПОНП плазмы крови ($R=+0,89$, $p<0,001$), в то же время наблюдалась отрицательная корреляционная зависимость с процентным содержанием $ЛПВП_2$ ($R=-0,7$, $p<0,01$) и с апоА-I ($R=-0,81$, $p<0,001$). В этой же группе процентное содержание ЛПНП и концентрация апоВ отрицательно коррелировали с $ЛПВП_3$ ($R=-0,74$ и $R=-0,67$; $p<0,01$), а отношение ЛПНП+ЛПОНП/ЛПВП отрицательно коррелировало с апоА-I ($R=0,71$, $p<0,01$) и положительно коррелировало с индексом Авогаро ($R=0,76$, $p<0,01$).

Согласно современным представлениям, существенный вклад в нарушение липидного обмена при различных патологиях вносят белковые компоненты липопротеинов. Атерогенные фракции липопротеинов содержат в основном апоВ, который связан с ЛПНП (85-90%) и ЛПОНП (4%). Основными белковыми компонентами антиатерогенных липопротеинов являются апоА-I и апоА-II, на долю которых приходится соответственно 80% и 20% всего белка ЛПВП. Считается, что наиболее информативными маркерами атеросклероза являются аполипопротеины, в частности, отношение апоА-I/апоВ [15]. Проведенные нами исследования показали, что по содержанию в плазме крови основных белков ЛПНП и ЛПВП сравниваемые группы имели статистически значимые различия (табл. 2). У больных СД 2 типа по сравнению со здоровыми лицами концентрация апоВ была выше на 21%, а концентрация апоА-I, напротив, ниже на 26%. Еще более выраженные различия получены при расчете индекса Авогаро (отношение апоА-I/апоВ). Значение данного показателя у больных СД 2 типа было в 1,85 раза ниже по сравнению с контрольной группой (табл. 2.).

Таблица 2. Изменение показателей липидного обмена в сыворотке крови больных СД 2 типа

Показатели	Содержание показателей липидного обмена в сыворотке крови групп:	
	Контрольная группа (n=30)	Больные СД 2 типа (n=82)
Триглицериды, ммоль/л	0,90±0,08	2,41±0,26**
Общий холестерин, ммоль/л	5,47±0,21	6,20±0,28
α-Холестерин, ммоль/л	1,44±0,13	1,23±0,06
α-Триглицериды, ммоль/л	0,20±0,04	0,81±0,11**
Индекс атерогенности	2,3±0,2	4,1±0,4**
АпоА-I, мг/дл	106,0±10,1	79,1±6,5*
АпоВ, мг/дл	84,6±7,4	102,1±5,5*
Отношение АпоА-I/АпоВ	1,3±0,1	0,7±0,1**

Примечание: * - $p<0,01$ и ** - $p<0,001$ по сравнению с контрольной группой.

Таблица 3. Изменение содержания липопротеинов различных классов в сыворотке крови больных СД 2 типа

	Содержание липопротеинов, %			
	ЛПОНП	ЛПНП	$ЛПВП_2$	$ЛПВП_3$
Контрольная группа (n=30)	12,9±1,05	44,6±1,8	24,5±2,0	18,0±1,4
Больные СД 2 типа (n=58)	22,4±1,8	53,2±2,0	10,4±1,2	13,9±1,1
p	<0,001	<0,05	<0,001	<0,05

Таким образом, у больных СД 2 типа наблюдалось развитие диабетической дислипидемии. На это указывает, с одной стороны, снижение в плазме крови уровня ЛПВП и апоА-I, обогащение ЛПВП триглицеридами и, с другой стороны, повышение содержания ЛПОНП, ЛПНП, апоВ и триглицеридов. Полученные результаты подтверждают существующие представления о том, что снижение уровня ЛПВП является характерной особенностью метаболического синдрома и СД 2 типа [1], в то время как, высокое содержание апоА-I и α-холестерина снижает риск развития диабета [16].

Учитывая обнаруженные метаболические изменения у больных СД 2 типа, мы исследовали влияние сыворотки крови на секрецию инсулина изолированными островками Лангерганса. При инкубации островков в бессывороточной среде в присутствии 20 мМ глюкозы секреция инсулина составляла 0,185±0,01 нг/мл в 1 ч. Добавление в инкубационную среду сыворотки крови здоровых людей приводило к возрастанию секреции инсулина в 4,7 раза (рис. 1). По сравнению с эффектом сыворотки крови здоровых людей сыворотка больных СД 2 типа в стадии декомпенсации вызывала снижение секреции гормона в 5,0 раз (рис. 1). Схожий ингибирующий эффект на секрецию инсулина обнаружен при добавлении в инкубационную среду сыворотки крови больных ожирением (рис. 1).

Как показано нами [6, 8] и другими авторами [2-5], одним из важных регуляторных факторов крови, изменяющих функциональную активность клеток, являются липопротеины. Проведённый нами биохимический анализ сыворотки крови выявил у больных СД 2 типа значительные отклонения от нормы по содержанию липопротеинов и их белковых компонентов (табл. 2 и 3). В связи с этим нами было исследовано влияние разных классов липопротеинов на секрецию инсулина изолированными островками. При добавлении в бессывороточную инкубационную среду 80 мкг/мл ЛПВП секреция инсулина возрастала в 3,4 раза (рис. 2). Подобный эффект обнаружен в присутствии 30 мкг/мл апоА-I, который является основным белковым компонентом ЛПВП. Примечательно, что добавление к островкам как ЛПНП, так и его основного белкового компонента апоВ, не оказывало статистически значимого влияния на секрецию гормона (рис. 2). Полученные результаты свидетельствуют о важной роли ЛПВП и апоА-I в поддержании секреторной активности β-клеток островков Лангерганса. Можно предположить, что обнаруженная нами низкая скорость секреции инсулина в присутствии сыворотки крови больных пациентов (рис. 1) связана с низким содержанием в ней ЛПВП (табл. 3) и апоА-I (табл. 2).

Ранее нами было обнаружено, что у больных СД 2 типа значительно снижена активность ММП в плазме крови [17]. Эти внеклеточные протеолитические ферменты участвуют во многих физиологических процессах, таких как клеточная миграция, дифференцировка, пролиферация и апоптоз.

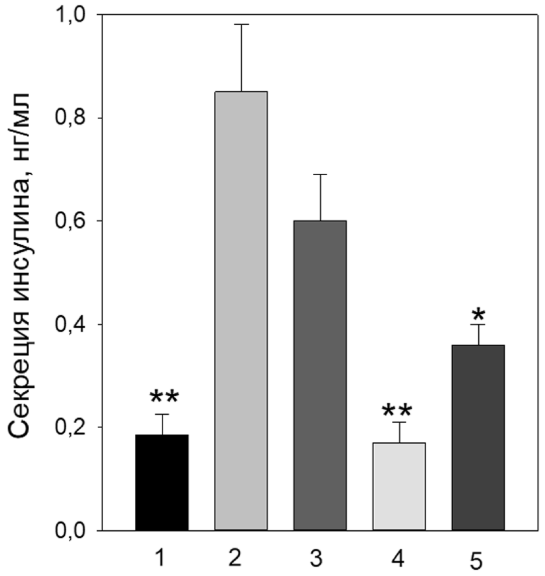

Рисунок 1. Влияние сыворотки крови здоровых людей и больных СД 2 типа на секрецию инсулина изолированными островками Лангерганса: 1 - бессывороточная среда, 2 - сыворотка крови здоровых людей, 3 - сыворотка крови больных СД 2 типа в стадии компенсации, 4 - сыворотка крови больных СД 2 типа в стадии декомпенсации, 5 - сыворотка крови больных ожирением. * - p<0,05 и ** - p<0,01 по сравнению с сывороткой крови здоровых людей (2-й столбик).

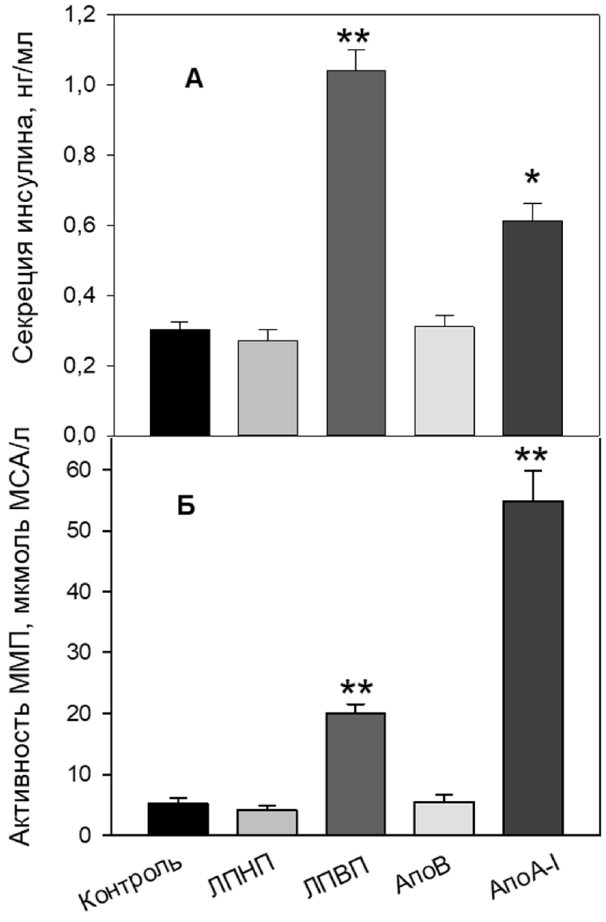

Рисунок 2. Влияние липопротеинов плазмы крови и их белковых компонентов на содержание инсулина (А) и активность ММП (Б) в инкубационной среде островков Лангерганса. * - p<0,05 и ** - p<0,01 по сравнению с контролем (без добавок).

В поджелудочной железе ММП играют важную роль в морфогенезе островков, стимулируя рост сосудистой системы [18]. Участвуя в деградации амилоидных полипептидов, ММП предотвращают образование амилоидных отложений в островках и апоптоз β-клеток [19]. Важно отметить, что в островках больных СД 2 типа значительно снижена экспрессия мРНК ММП-9 [19]. Учитывая эти факты, нами было исследовано влияние липопротеинов на активность ММП в инкубационной среде островков Лангерганса. Установлено, что при добавлении в инкубационную среду ЛПВП активность ММП возрастала в 4 раза (рис. 2). Еще более выраженный прирост (в 10 раз) активности ММП выявлен в присутствии апоА-I. При добавлении к островкам ЛПНП или апо В активность ММП в среде не отличалась от контрольных значений (рис. 2). Согласно нашим данным, апоА-I также повышает активность ММП в культуре клеток костного мозга [7]. В связи с этим, можно предположить, что апоА-I является важным регулятором активности этих ферментов в органах и тканях. Механизм повышения внеклеточной активности ММП при инкубации островков в присутствии ЛПВП и апоА-I остаётся неизвестным. Не исключено, что он связан с изменением функциональной активности резидентных макрофагов, которые способны секретировать как ММП, так и тканевые ингибиторы металлопротеиназ [20].

Как известно, развитие СД 2 типа сопровождается уменьшением количества функционирующих β-клеток, снижением их секреторной активности, нарушением чувствительности тканей к инсулину (инсулинорезистентность) и развитием гипергликемии [21]. Полученные результаты позволяют предполагать, что повышение уровня ЛПВП и апоА-I с помощью фармакологических препаратов или введения в организм рекомбинантного апоА-I может оказывать стимулирующее действие на островковый аппарат поджелудочной железы. Действительно, при внутривенном введении больным СД 2 типа реконструированных ЛПВП обнаружено снижение концентрации глюкозы в крови, что, по мнению авторов, связано с повышением продукции инсулина [22]. Глюкозо-снижающий эффект может быть связан и с прямым стимулирующим действием апоА-I на транспорт глюкозы в органах и тканях, так как на культуре скелетных мышц линии L6 показано, что данный белок вызывает активацию транспортера глюкозы (GLUT4) на плазматической мембране клеток [23]. Эксперименты, выполненные на линии клеток Min6, свидетельствуют о том, что индуктором синтеза и секреции инсулина являются не только апоА-I, но и апоА-II. При этом оба белка могут проявлять свое регуляторное действие, как в свободной форме, так и в составе реконструированных ЛПВП [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

В работе показано, что в сыворотке крови больных СД 2 типа снижено содержание антиатерогенных ЛПВП и апоА-I. Секреция инсулина изолированными островками Лангерганса в присутствии сыворотки крови больных СД 2 типа значительно ниже по сравнению с сывороткой здоровых пациентов. Добавление в инкубационную среду ЛПВП, напротив, приводит к возрастанию секреции гормона. Подобный эффект обнаружен в присутствии апоА-I, который является основным белковым компонентом ЛПВП. Под влиянием апоА-I также значительно возрастает внеклеточная активность ММП. При добавлении к островкам ЛПОНП и ЛПНП секреция инсулина и активность ММП не изменяется. Полученные результаты свидетельствуют о том, что ЛПВП и апоА-I являются важными факторами, регулирующими секрецию инсулина β-клетками и активность ММП в островках Лангерганса.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Taskinen M.R.* (2003) Diabetologia, **46**, 733-749.
2. *Бочков В.Н., Ткачук В.А.* (2005) Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова, **91**(1), 12-30.
3. *Zhou X., Von Eckardstein A.* (2002) J. Huazhong. Univ. Sci. Technolog. Med. Sci., **22**, 270-272.
4. *Yamato K., Tamasawa N., Murakami H., Guan J.Z., Tanabe J., Matsui J., Suda T., Yasujima M.* (2003) Tohoku J. Exp. Med., **201**, 47-54.
5. *Nofer J.R.* (2015) Handb. Exp. Pharmacol., **224**, 229-256.
6. *Panin L.E., Maksimov V.F., Usynin I.F., Korostyshevskaya I.M.* (2002) J. Steroid Biochem. Mol. Biol., **81**, 69-76.
7. *Ткаченко Т.А., Печенкина А.Ю., Потеряева О.Н., Русских Г.С., Дударев А.Н., Давыденко С.В., Усынин И.Ф.* (2014) Медицина и образование в Сибири, №3 (сетевое научное издание).
8. *Усынин И.Ф., Дударев А.Н., Городецкая А.Ю., Мирошниченко С.М., Ткаченко Т.А., Ткаченко В.И.* (2017) Бюлл. экспер. биол. мед., **164**, 285-288.
9. *Lacy P.E., Kostianovsky M.* (1967) Diabetes, **16**, 35-39.
10. *Mills G.L., Lane P.L., Weech P.K.* (1984) In: Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology, Vol. 14 (Burden R.H., van Knippenberg P.H., Eds.) Elsevier, Amsterdam, pp. 18-116.
11. *Поляков Л.М., Потеряева О.Н., Панин Л.Е.* (1999) Биомед. химия, **45**, 65-69.
12. *Nagase H., Woessner J.* (1999) J. Biol. Chem., **274**(31), 21491-21494.
13. *Ebtehaj S., Gruppen E.G., Parvizi M., Tietge U.J.F., Dullaart R.P.F.* (2017) Cardiovascular Diabetology, **16**, 132, 2-9.
14. *Kodama S., Horikawa C., Fujihara K., Yoshizawa S., Yachi Y., Tanaka S., Ohara N., Matsunaga S., Yamada T., Hanyu O., Sone H.* (2014) Obes. Rev., **15**, 202-214.
15. *Avogaro P., Bon Bittolo G., Gazzolato G.* (1979) In: Atherosclerosis (Gotto A.M., Smith L.C., Allen B., Eds.), pp. 816-819.
16. *Femlak M., Gluba-Brzózka A., Ciaikowska-Rysz A., Rysz J.* (2017) Lipids in Health and Disease, **16**, 207.
17. *Потеряева О.Н., Русских Г.С., Панин Л.Е.* (2011) Бюлл. экспер. биол. мед., **152**, 509-510.
18. *Christoffersson G., Waldén T., Sandberg M., Opdenakker G., Carlsson P.O., Phillipson M.* (2015) Am. J. Pathol., **185**, 1094-1103.
19. *Aston-Mourney K., Zraika S., Udayasankar J., Subramanian S.L., Green P.S., Kahn S.E., Hull R.L.* (2013) J. Biol. Chem., **288**, 3553-3559.

20. *Newby A.* (2008) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **28**, 2108-2114.
21. *Butler A.E, Janson J., Bonner-Weir S., Ritzel R., Rizza R.A., Butler P.C.* (2003) Diabetes, **52**, 102-110.
22. *Drew B.G., Rye K.A., Duffy S.J., Barter P., Kingwell B.A.* (2012) Nat. Rev. Endocrinol., **8**, 237-245.
23. *Dalla-Riva J., Stenkula K.G., Petrlova J., Lagerstedt J.O.* (2013) J. Lipid Res., **54**, 1275-1282.
24. *Fryirs M.A., Barter P.J., Appavoo M., Tuch B.E., Tabet F., Heather A.K., Rye K.A.* (2010) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **30**, 1642-1648.

Поступила: 12. 12. 2017.
Принята к печати: 07. 02. 2018.

APOLIPOPROTEIN A-I STIMULATES SECRETION OF INSULIN AND MATRIX METALLOPROTEINASES BY ISLETS OF LANGERHANS

I.F. Usynin[1], O.N. Poteryaeva[1], G.S. Russkikh[1], A.V. Zubova[2], K.Yu. Boiko[2], L.M. Polyakov[1]

[1]Institute of Biochemistry,
2 Timakova str., Novosibirsk, 630117 Russia; e-mail: ivan.usynin@niibch.ru
[2]Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, 630090 Russia

The development of type 2 diabetes mellitus (DM2) is accompanied by disturbances in lipid metabolism. These include the increase in serum levels of atherogenic fractions of very low-density (VLDL) and low-density lipoproteins (LDL), total cholesterol, triglycerides and apo B. In contrast, the level of antiatherogenic high density lipoproteins (HDL) and the content of apolipoprotein A-I (apoA-I) decreased. To study the effect of the observed metabolic changes on insulin secretion *in vitro*, we used the islets of Langerhans isolated from the rat pancreas. It has been found that incubation of the islets in the presence of serum of the obese patients and patients with decompensated DM2 leads to a decrease in insulin secretion by 2.4 and 5.0 times, respectively. On the contrary, the addition of HDL to the incubation medium increased the insulin secretion by 3.4 times. A similar effect was observed in the presence of apoA-I, the main protein component of HDL. In the presence of apoA-I, the extracellular activity of matrix metalloproteinases (MMPs) demonstrated a 10-fold increase. The addition of LDL and VLDL to the islets did not change the secretion of insulin and activity of MMP. Our results testify to the important role of HDL and apoA-I in regulation of the insulin secretion by β-cells and the activity of MMPs in the islets of Langerhans.

Key words: type 2 diabetes mellitus, apolipoprotein A-I, insulin, matrix metalloproteinases, islets of Langerhans