

## РОЛЬ СИСТЕМЫ ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В РАЗВИТИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1-ТИПА. ПЕРОКСИРЕДОКСИН 6 КАК НОВЫЙ АНТИДИАБЕТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ

### Обзор

© 2021 Е.Г. Новосёлова\*, О.В. Глушкова, М.О. Хренов,  
С.М. Лунин, Т.В. Новосёлова, С.Б. Парфенюк

Институт биофизики клетки РАН, 142290 Пущино, Московская обл., Россия;  
электронная почта: elenapov\_06@mail.ru

Поступила в редакцию 04.08.2021

После доработки 20.10.2021

Принята к публикации 03.11.2021

В обзоре обсуждаются сведения о развитии сахарного диабета 1-типа (Д1Т) как системного аутоиммунного и воспалительного заболевания. Основное внимание уделено роли системы врождённого иммунитета, включая активацию некоторых сигнальных каскадов, цитокиновый ответ и активность Toll-подобных рецепторов в развитии Д1Т. Нарушение функций врождённого иммунитета является причиной атаки Т-лимфоцитов на бета-клетки поджелудочной железы собственного организма и приводит к гибели этих, продуцирующих инсулин, клеток. Недостаток инсулина вызывает гипергликемию и необходимость пожизненных инъекций инсулина пациентам с Д1Т, что тем не менее не исключает повреждения многих органов и тканей, учитывая особенную уязвимость кровеносных сосудов в условиях гипергликемии. В обзоре обсуждается роль окислительного стресса как фактора, играющего основную роль в повреждении сосудистой системы и ткани поджелудочной железы при развитии Д1Т. С учётом особой уязвимости панкреатических бета-клеток к действию активных форм кислорода (АФК) обсуждается возможность использования антиоксидантов для снижения уровня патологических последствий развития Д1Т. Обсуждаются новые сведения об антидиабетической активности экзогенного фермента-антиоксиданта, пероксиредоксина 6, способного проникать в клетки, стимулировать продукцию инсулина в бета-клетках, снижать уровень АФК, а также снижать активацию некоторых сигнальных каскадов, продукцию цитокинов и экспрессию Toll-подобных рецепторов в бета-клетках и в иммунных клетках в условиях Д1Т.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** пероксиредоксин 6, гипергликемия, цитокины, бета-клетки RIN-m5F, продукция инсулина, сигнальные каскады NF-κB и JNK.

DOI: 10.31857/S0320972521120083

### ВВЕДЕНИЕ. СТРУКТУРА ОБЗОРА

Обзор посвящён анализу имеющихся сведений о закономерностях развития сахарного диабета 1-го типа (Д1Т), который относится к тяжёлым социально-значимым заболеваниям с ежегодно увеличивающимся числом пациентов в мире. Известно, что осложнения, связанные с Д1Т, являются одной из причин повышения за-

болеваемости во всем мире, что негативно влияет на качество жизни людей с Д1Т, увеличивая инвалидность и смертность. В частности, осложнения Д1Т классифицируются как микрососудистые (например, ретинопатия, нефропатия и невропатия) или макрососудистые (например, сердечно-сосудистые заболевания, нарушения мозгового кровообращения и заболевания периферических сосудов).

Сахарный диабет 1-го типа является аутоиммунным заболеванием, которое возникает из-за деструкции инсулин-продуцирующих панкреатических бета-клеток, которые атакуются аутореактивными клонами Т-лимфоцитов. Недостаток инсулина ведёт к гипергликемии, которая вызывает, несмотря на ежедневные инъекции инсулина, многие осложнения, главным образом на уровне сосудов ряда органов. Число ис-

Принятые сокращения: АФК – активные формы кислорода; Д1Т и Д2Т – диабет 1- и 2-типа; GPx – глутатионпероксидаза; IL – интерлейкин; JNK – c-Jun N-терминальная киназа; NF-κB – ядерный фактор κB; Prdx 6 – пероксиредоксин 6; PRR – паттерн-распознающие рецепторы; RIN-m5F – линия клеток инсулиномы крыс; STZ – стрептозотозин; TLR – Toll-подобные рецепторы; TNF-α – фактор некроза опухолей.

\* Адресат для корреспонденции.

точников научной литературы, посвящённой исследованию закономерностей возникновения, развития и новых подходов к лечению Д1Т, составляет более 100 тысяч (не считая чисто медицинских работ), что означает серьёзное внимание исследователей к изучению закономерностей и последствий этого тяжёлого заболевания.

Учитывая многофакторность Д1Т и большое число работ, посвящённых его изучению, настоящий обзор структурирован таким образом, чтобы акцентировать внимание на ключевых механизмах развития Д1Т и обсудить современные подходы, предпринимаемые для снижения негативных последствий этого заболевания. В первом разделе «Диабет 1-типа как аутоиммунное состояние» анализируются различные аспекты развития Д1Т, сравниваются разные модели диабета у животных, разработанные для изучения закономерностей возникновения и развития Д1Т, обсуждаются условия аутоиммунной «атаки» Т-лимфоцитов на бета-клетки поджелудочной железы собственного организма. На основании этого анализа делается вывод о том, что аутоиммунная реакция возникает из-за дефектов функционирования системы врождённого иммунитета. Следующий раздел обзора «Система врождённого иммунитета и диабет 1-типа» посвящён анализу активности некоторых сигнальных каскадов (NF-κB и JNK), роли цитокинов, а также участию Toll-подобных рецепторов (Toll-like receptors, TLR) в ответах против собственных антигенов при диабете 1-типа. Следует отметить, что в результате аутоиммунной реакции, сопровождающей развитие Д1Т, повреждаются бета-клетки поджелудочной железы, что является основным признаком развития сахарного диабета 1-типа. Раздел «Апоптоз бета-клеток поджелудочной железы и диабет 1-типа» содержит анализ роли апоптоза панкреатических бета-клеток как одного из стартовых событий в развитии Д1Т. Делается заключение, что одним из ключевых инструментов для развития диабета 1-типа является окислительный стресс. Раздел «Окислительный стресс и диабет 1-типа» содержит анализ современных источников литературы с доказательствами окислительного стресса при развитии Д1Т. Анализ сведений из мировой литературы показал, что всё больше данных свидетельствуют о том, что образование АФК играет центральную роль как в повреждении сосудистой системы, так и ткани поджелудочной железы при развитии Д1Т. Следующий раздел обзора посвящён анализу подходов использования антиоксидантов для снижения патологических последствий Д1Т. Наконец, в разделе «Защитные эффекты пероксиредоксина 6 в разных моделях диабета 1-типа» обсуждаются

новые данные об антидиабетических эффектах пероксиредоксина 6 (Prdx6) как малоизученного фермента-антиоксиданта, перспективного при разработке новых препаратов для профилактики и лечения сахарного диабета 1-типа.

## ДИАБЕТ 1-ТИПА КАК АУТОИММУННОЕ СОСТОЯНИЕ

Сахарный диабет 1-типа называют инсулинозависимым диабетом, в отличие от диабета 2-типа (Д2Т). Хотя на Д1Т приходится не более 5–10% всех случаев сахарного диабета, это заболевание относится к разряду очень тяжёлых патологий и развивается в основном у детей и лиц юного возраста. У больных Д1Т масштабные изменения наступают быстро, что сопровождается резким ухудшением состояния здоровья. Редко сахарный диабет 1-типа развивается у взрослых людей после сорока лет, у них болезнь протекает скрыто.

Сахарный диабет 1-го типа является аутоиммунным заболеванием, которое возникает из-за разрушения инсулин-продуцирующих бета-клеток поджелудочной железы в результате атаки на них аутореактивных клонов цитотоксических Т-лимфоцитов. Клинически это заболевание проявляется в том случае, когда гибнет большинство инсулин-продуцирующих панкреатических бета-клеток через механизм активации аутореактивных Т-клеток. Массовая гибель продуцирующих инсулин бета-клеток, которую вызывают мигрирующие в поджелудочную железу собственные цитотоксические Т-лимфоциты, приводит к накоплению глюкозы в крови, что вызывает необходимость регулярного пожизненного применения инсулина больными с Д1Т. Даже при компенсаторном введении инсулина диабет первого типа вызывает ряд серьёзных поражений многих систем и органов, включая сердечно-сосудистую систему [1], почки [2], глаза [3] и др. Известно, что при диабете особенно сильно повреждаются кровеносные сосуды, поэтому среди больных Д1Т смертность от инсультов и инфарктов в 3 раза выше, чем у других категорий населения. Эпидемиологические исследования сахарного диабета регулярно проводятся Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) и Международной федерацией диабета (International Diabetes Federation, IDF). В 1998 г. исследователи предсказывали, что число заболевших диабетом 1-го и 2-го типа увеличится с 135 млн в 1995 г. до 300 млн – к 2025 г. [4]. В конце 2019 г. опубликованы данные исследований IDF, согласно которым в 2019 г. в мире 453 млн человек болели сахарным Д1Т и Д2Т, а

по прогнозам, к 2045 г. эта цифра вырастет до 700 млн человек. Действительно, все исследователи отмечают тенденцию ежегодного прироста случаев диагностированного диабета. При этом следует иметь в виду, что не все заболевания диабетом диагностируются. Например, в ходе исследования россиян в 2013–2015 гг., проведённого ФГБУ ЭНЦ (Эндокринологический научный центр МЗ РФ), выяснилось, что 50% больных диабетом не знали о своём заболевании (исследовали 26 000 человек в возрасте от 20 до 79 лет из 63 регионов России).

В настоящее время в мировой практике самым распространённым методом лечения аутоиммунного сахарного диабета является заместительная инсулинотерапия. Тем не менее в мире проводятся исследования, направленные на поиск других подходов, способных уменьшить степень разрушения бета-клеток поджелудочной железы или даже стимулировать их дифференцировку. Кроме метода трансплантации островков Лангерганса, который способен возмещать потерю массы бета-клеток [5], ведётся поиск и других, неинвазивных методов, направленных на стимуляцию неогенеза этих инсулин-продуцирующих клеток. Следует отметить, что для этой цели используются вещества растительного происхождения, которые обладают антиоксидантной активностью, например, свертисин (swertisin) [6].

В настоящее время в большинстве работ, посвящённых исследованию патогенеза сахарного диабета 1-го типа, основное внимание направлено на изучение панкреатических бета-клеток, которые являются мишенями аутоиммунной атаки. Между тем первопричиной заболевания, как правило, становятся нарушения в иммунной системе, которые приводят к возникновению клонов Т-лимфоцитов, атакующих панкреатические бета-клетки собственного организма. В течение последующих воспалительных реакций провоспалительные цитокины, включая IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и интерферон- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), высвобождаются в окружение бета-клеток активированными макрофагами и Т-клетками, вызывая дисфункцию и гибель инсулин-продуцирующих клеток [7]. Обычно провоспалительный ответ защищает организм млекопитающих от чужеродных патогенов, он направлен на сохранение целостности тканей и клеточных систем. С другой стороны, «дефектный» провоспалительный ответ может вызвать обратный эффект, индуцируя риск возникновения аутоиммунных патологий, к которым относится и Д1Т [8, 9].

Поскольку исследование патогенеза диабета у человека имеет большой ряд ограничений, разработаны модели диабета у животных, которые являются удобными инструментами для

изучения молекулярно-клеточных механизмов, участвующих в развитии этой патологии [10]. Диабет обычно вызывается у грызунов с использованием химических агентов: стрептозотоцина (streptozotocin, STZ) или аллоксана (alloxan) [11, 12], которые разрушают панкреатические бета-клетки, продуцирующие инсулин, и таким образом вызывают развитие диабета 1-го типа. Самой известной животной моделью Д1Т являются мыши линии NOD (Non Obese Diabetes mice). Использование NOD-мышей обеспечило значительный прогресс в понимании Д1Т у человека, потому что эта модель «истинного» диабета открыла перспективы для изучения кинетики и инициации диабета. У этих мышей диабет развивается спонтанно, при этом генетические и патологические последствия аналогичны таковым у человека [13]. Известно, что Д1Т у человека часто является наследственным, что связано с изменёнными генами, обеспечивающими восприимчивость к Д1Т [14]. Генетический локус *HLA*, который определяет селекцию Т-лимфоцитов в тимусе, наиболее вероятно, связан с развитием Д1Т [15]. Существуют и другие гены, которые в меньшей степени могут ассоциироваться с развитием Д1Т [16]. Тем не менее во многих странах число диагностируемых случаев Д1Т нарастает с большой скоростью, которую нельзя объяснить только генетической предрасположенностью — это свидетельствует о важности внешних факторов [17]. Действительно, исследования однойцевых близнецов с наследственным «семейным» Д1Т показали, что только примерно половина из них заболевает диабетом [18], что указывает на роль неблагоприятных факторов окружающей среды для риска развития Д1Т [19].

Механизм развития Д1Т у человека остаётся во многом неясным. Можно выделить по крайней мере 3 очевидных стадии возникновения Д1Т: активация аутореактивных клонов Т-лимфоцитов, направленных на разрушение бета-клеток поджелудочной железы, провоспалительный ответ организма и, наконец, нарушение иммунной регуляции аутоиммунных ответов. Следует отметить, что каждая из этих составляющих развития Д1Т изучена в разной степени, но очевидно, что именно возникновение иммунного дисбаланса является определяющим в патофизиологии этого заболевания.

## СИСТЕМА ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТА И ДИАБЕТ 1-ТИПА

Система врождённого иммунитета представляет собой первую линию защиты от патогенов

и чужеродных молекул. В эту систему входит неизменный набор распознающих молекул, которые способны узнавать определённые молекулярные паттерны чужеродных агентов, попадающих в организм, причём распознаваемые паттерны могут быть растворимыми, связанными с мембранами или цитозольными [20]. Система врождённого иммунитета включает множество клеточных популяций: макрофаги, дендритные клетки, естественные киллеры и нейтрофилы, причём каждая из этих групп клеток несёт свою функцию в формирование иммунного ответа, при этом важная роль врождённого иммунитета при развитии Д1Т не вызывает сомнений [21]. Развитие аутоиммунного диабета 1-типа включает провоспалительный ответ, одним из важных участников которого является ядерный фактор  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ). Действительно, ранее была проведена оценка роли конститутивной активации NF- $\kappa\text{B}$  и были обсуждены стратегии предотвращения продолжительной активации пути NF- $\kappa\text{B}$  при Д1Т у человека [22].

Семейство NF- $\kappa\text{B}$  состоит из ДНК-связывающих белковых факторов, которые необходимы для транскрипции большинства провоспалительных молекул, включая молекулы адгезии, ферменты, цитокины и хемокины. Исследования, проведённые на различных клеточных и животных экспериментальных системах, позволяют предположить, что активация NF- $\kappa\text{B}$  в иммунных клетках и в панкреатических бета-клетках является ключевым событием для старта развития Д1Т [23]. По этой причине очевидной целью кажется применение усилий по снижению чрезмерной активации этого ключевого сигнального каскада для снижения последствий развития Д1Т. Действительно, семейство NF- $\kappa\text{B}$  состоит из группы индуцибельных транскрипционных факторов, которые регулируют иммунные и воспалительные реакции и защищают клетки от апоптоза в ответ на клеточный стресс. Следует добавить, что *c-Jun* N-терминальная киназа (JNK) также участвует в патогенезе диабета, особенно для модели Д1Т, вызванного STZ [24, 25], при этом ингибиторы JNK, включая ингибиторы поли(АДФ-рибозы), способны снижать патологические последствия Д1Т [26]. Интересно, что антиангиогенный эффект блокатора кальциевых каналов, тетрандрина, на кровеносные сосуды у крыс со стрептозотоцин-индуцированным диабетом также был связан с понижением уровней TNF- $\alpha$  и NF- $\kappa\text{B}$  [27].

Система врождённого иммунитета отвечает на чужеродные агенты и эндогенные патогены с помощью группы рецепторов, известных как паттерн-распознающие рецепторы (pattern recognition receptors, PRR). Эти рецепторы могут

быть обнаружены во внутриклеточных органеллах, могут секретироваться через систему циркуляции крови и локализоваться на поверхности клеток [28].

Среди PRR особое место занимают Toll-подобные рецепторы, которые могут распознавать широкий набор патогенов. Установлено, что TLR являются эволюционно сохранным классом PRR, стимуляция которых непременно приводит к активации иммунной системы [29]. Связываясь с лигандом и активируясь, TLR индуцируют каскад провоспалительных ответов, что вызывает, прежде всего, усиленную продукцию цитокинов и хемокинов [30, 31]. На основании исследований, проведённых с использованием моделей Д1Т, было сделано предположение, что семейство TLR играет важную роль в иницировании аутоиммунного процесса, приводящего к разрушению островков Лангерганса поджелудочной железы [32].

Однако роль системы врождённого иммунитета и, в частности, TLR в развитии сахарного диабета 1-типа у человека пока остаётся малоизученной. Некоторые авторы предполагали, что аутоактивные процессы против собственных антигенов при Д1Т могут объясняться неоправданно сильным адаптивным иммунным ответом при участии TLR [33].

Было показано, что стимуляция или ингибирование TLR в моноцитах периферической крови (PBMC) пациентов со вновь диагностируемым Д1Т изменяет соотношение дендритных клеток и моноцитов, при этом наблюдается значительное изменение цитокинового профиля [34]. О важной роли сигнальных путей, регулируемых TLR4, в развитии сердечных аномалий, связанных с жировой инфильтрацией сердечной мышцы, свидетельствовали данные по исследованию NOD-мышей, дефицитных по *TLR4* [35].

Ранее было показано участие TLR2 и TLR4 в развитии Д1Т и у человека. Так, результаты исследования пациентов с диагностированным Д1Т показали увеличение экспрессии TLR2 и TLR4 в моноцитах крови этих людей [36]. Между тем имеются сведения о том, что разные члены семейства TLR играют неодинаковую роль в развитии диабета 1-типа. Так, при использовании NOD-мышей было установлено, что TLR3 не участвует в механизме аутоиммунного ответа, тогда как у мышей, дефицитных по *TLR9*, была значительно снижена заболеваемость диабетом [37]. Таким образом, участие системы врождённого иммунитета с учётом роли TLR в настоящее время не вызывает сомнений, что, по мнению многих исследователей, может быть основанием для разработки новых стратегий для ле-

чения и/или предотвращения сахарного диабета 1-типа [38].

### АПОПТОЗ БЕТА-КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ДИАБЕТ 1-ТИПА

Важная роль врождённого иммунитета, связанная с патогенезом Д1Т, была подтверждена результатами исследования апоптоза бета-клеток поджелудочной железы при диабете. Известно, что апоптоз инсулин-продуцирующих клеток поджелудочной железы является последним этапом развития Д1Т, приводит к критическому уменьшению массы бета-клеток и клиническому проявлению Д1Т [39, 40]. На момент постановки диагноза Д1Т островки Лангерганса инфильтрированы иммунными клетками (инсулит) [41], и в этот момент около 70–80% общей массы бета-клеток уже потеряно, поэтому так важно раннее прогнозирование и предотвращение развития диабета. Некоторые исследования показали, что индукция инсулита может быть вызвана также неспецифической вирусной инфекцией [42, 43].

В начале 2000-х гг. было опубликовано несколько работ, посвящённых сравнению динамики развития апоптоза бета-клеток с появлением аутоиммунитета у молодых NOD-мышей, которые являются классической моделью Д1Т. Было установлено, что в возрасте 2–3 недели у NOD-мышей наблюдается пик развития поджелудочной железы, и это совпадает с появлением диабетогенных Т-клеток, особенно в лимфатических узлах поджелудочной железы мышей. При этом авторы показали, что одновременно с этими событиями у новорождённых NOD-мышей происходит увеличение уровня апоптоза бета-клеток [44, 45]. Известно, что обычно апоптозные клетки быстро утилизируются макрофагами, однако при нарушении этого процесса клетки могут подвергаться вторичному некрозу, что может вызывать негативные последствия. Такие события могут возникать у NOD-мышей, клетки которых имеют дефекты в фагоцитарной способности [46]. Эти данные показали, что в некоторых случаях физиологический апоптоз может фактически инициировать возникновение аутоиммунитета. Таким образом, можно сделать парадоксальное заключение о том, что ускорение апоптоза бета-клеток у животных с Д1Т является триггером для возникновения аутоиммунитета, направленного на бета-клетку.

С другой стороны, было показано, что поздние апоптотические бета-клетки со вторичным некрозом вызывали воспалительные реакции в

макрофагах через сигнальный путь TLR2. Поздние апоптотические клетки также индуцировали TLR2-зависимое созревание дендритных клеток, а затем активацию аутореактивных Т-клеток [47]. У мышей с нокаутом *TLR2* было обнаружено дефектное праймирование диабетогенных Т-клеток апоптозными бета-клетками в лимфатических узлах поджелудочной железы. Кроме того, недостаточность TLR2 усиливала защиту от диабета 1-типа в моделях Д1Т у животных [48]. Эти данные свидетельствуют о том, что апоптоз панкреатических бета-клеток является одним из стартовых событий в развитии Д1Т.

Активное изучение патогенеза Д1Т в течение последних десятилетий позволило выявить гетерогенность этого заболевания как в отношении клинического фенотипа, так и в ответе на терапию для предотвращения или рецидива диабета. Эта неоднородность не только ограничивает усилия по точному прогнозированию клинической картины, но также отражается в отсутствии прогнозируемых ответов на иммуномодулирующую терапию [49]. Таким образом, существует потребность в надёжных биомаркерах неблагоприятия бета-клеток, которые могли бы обеспечить понимание патофизиологических различий в течение заболевания, улучшить прогнозирование заболевания и успешность применения иммуномодулирующих технологий [50].

### ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И ДИАБЕТ 1-ТИПА

Известно, что гипергликемия приводит не только к продукции АФК, но также снижает эффективность эндогенной антиоксидантной системы защиты при сахарном диабете [51]. Антиоксидантные механизмы защиты включают в себя как ферментативные, так и не ферментативные системы. Имеются весомые доказательства окислительного стресса при сахарном диабете 1-го и 2-го типов [52–54]. При этом повышение продукции активных форм кислорода или азота увеличивает расходование эндогенных ферментов-антиоксидантов (супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы (GPx) и каталазы) и снижает концентрацию некоторых низкомолекулярных антиоксидантов, например витамина D [55].

Воспаление – важный компонент патогенеза Д1Т, который гистологически охарактеризован наличием инфильтрирующих лейкоцитов и циркулирующих антиостровковых антител. Исследования с использованием эксперименталь-

ных моделей Д1Т доказывают, что окислительный стресс может инициировать или ускорить воспалительный процесс через активацию сосудистых эндотелиальных клеток, способствуя экспрессии множества провоспалительных цитокинов и хемокинов. Интересно, что всё больше доклинических данных свидетельствуют о том, что образование АФК играет центральную роль как в повреждении сосудистой системы, так и ткани поджелудочной железы [51].

Особенно значительный повреждающий эффект окислительного стресса, нарушающего баланс между свободными формами кислорода и антиоксидантной системой, был отмечен в отношении сердечной мышцы. Действительно, кардиологические патологии наряду с другими часто отягощают течение инсулин-зависимого Д1Т. Гипергликемия, вызывая выработку и накопление АФК, вызывает сократительную дисфункцию сердечной мышцы при диабете [56]. При этом накопление АФК вызывает каскад патофизиологических событий, в том числе нарушение кальциевого гомеостаза, увеличение окислительного стресса, дисфункцию митохондрий и других факторов, вызывающих диабетическую кардиомиопатию [57]. В условиях диабета хроническая гипергликемия постепенно подавляет активность бета-клеток и усиливает инсулинорезистентность. Этот процесс, типичный для Д2Т, называется «токсичностью глюкозы». В таких условиях провоцируется окислительный стресс и активируется путь JNK, который участвует в дисфункции бета-клеток поджелудочной железы и резистентности к инсулину [58].

### **РОЛЬ АНТИОКСИДАНТОВ ДЛЯ ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ДИАБЕТА**

Окислительный стресс, который возникает при развитии Д1Т, рассматривается как один из главных патофизиологических факторов сахарного диабета [59]. Считается, что для предотвращения повреждения клеток, вызванного АФК, антиоксиданты действуют по одному из трёх механизмов: они могут уменьшить образование АФК, утилизировать их или препятствовать патологическим изменениям, вызванным АФК. Особенно подробно были исследованы кардиопатологические последствия сахарного диабета 1-го типа. Было доказано существование тесной связи между ослаблением передачи сигналов инсулина и изменением функции сердца через подавление механизма эндогенной антиоксидантной защиты [56, 60, 61]. Положение усугубляет-

ся тем, что гипергликемия при сахарном диабете также снижает уровень эндогенной антиоксидантной системы защиты, включающей ферменты-антиоксиданты и низкомолекулярные соединения, обладающие антиоксидантной активностью [62].

В мировой литературе имеются сведения о применении антиоксидантов, в основном низкомолекулярных природных и синтетических веществ, для лечения различных патологий, сопряжённых с сахарным диабетом [63, 64]. Клинические испытания, изучающие влияние витаминов-антиоксидантов на прогрессирование осложнений сахарного диабета, к сожалению, чаще всего дают отрицательные или неубедительные результаты [65]. По этой причине целью исследователей является поиск новых соединений, обладающих антиоксидантной активностью, которые способны нейтрализовать окислительный стресс, связанный с развитием Д1Т. При этом есть все основания полагать, что ферменты-антиоксиданты могут быть более эффективными по своей способности нейтрализовать АФК по сравнению с низкомолекулярными антиоксидантами. Действительно, было показано, что ингибирование АФК с использованием имитатора супероксиддисмутазы задерживает развитие экспериментального диабета [66]. Другие авторы, изучая влияние антиоксиданта, эбселена (пероральный миметик глутатионпероксидазы), на изменение уровня инсулина в крови молодых крыс по мере их взросления, показали, что к 14-й неделе приема эбселена количество инсулина у животных с Д2Т, получающих антиоксидант, достоверно возрастало [67].

### **ЗАЩИТНЫЕ ЭФФЕКТЫ ПЕРОКСИРЕДОКСИНА 6 В РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ ДИАБЕТА 1-ТИПА**

Исследования по использованию фермента пероксиредоксина 6, обладающего пероксидазной и фосфолипазной активностями, показали, что экзогенный рекомбинантный Prdx6 проявляет терапевтический эффект при различных патологиях, связанных с окислительным стрессом, например, при механических и термических травмах кожи, химических ожогах дыхательных путей, гипоксии-реперфузии кишечника [68–70]. Более того, среди пероксиредоксинов млекопитающих (Prdx1–6) особый интерес представляет именно Prdx6, который способен восстанавливать самый широкий спектр пероксидов, включая гидропероксиды фосфолипидов [71, 72]. Кроме пероксидазной активности,

Prdx6 обладает  $\text{Ca}^{2+}$ -независимой активностью фосфолипазы A2 (aiPLA2), которая обычно проявляется только в кислых условиях (в лизосомах и ламеллярных тельцах при pH 4–5) и играет важную роль в метаболизме фосфолипидов и во внутриклеточной/межклеточной передаче сигналов [73].

Нокаут гена *PRDX6* приводил к повышению чувствительности животных к окислительному стрессу. В частности, было показано, что животные с нокаутом *PRDX6* (*PRDX6*<sup>-/-</sup>) чувствительны к гипероксии (в атмосфере 100% кислорода). Примечательно, что у таких животных наблюдалось окислительное повреждение лёгких и уменьшение продолжительности жизни [74]. Сравнение мышей с нокаутом гена, кодирующего глутатионпероксидазу 1 (*GPX1*<sup>-/-</sup>), и мышей с нокаутом *PRDX6* (*PRDX6*<sup>-/-</sup>) показало, что Prdx6 является основным ферментом для элиминации гидропероксидов фосфолипидов в лёгких [75].

Таким образом, Prdx6 является важным ферментом-антиоксидантом, участвующим в регуляции окислительно-восстановительного гомеостаза клеток.

Мы предположили, что Prdx6 может быть эффективным в качестве агента, подавляющего уровень окислительного стресса при сахарном диабете 1-типа. Действительно, в сравнении с другими тканями млекопитающих в бета-клетках поджелудочной железы содержатся более низкие уровни ферментов-антиоксидантов, таких как супероксиддисмутаза, каталаза и GPx, что делает эти клетки более уязвимыми к повреждающему действию АФК [76, 77]. Ещё более 30 лет назад было показано, что активность GPx и резистентность к пероксиду примерно в 20 раз выше в печени и почках, чем в поджелудочной железе [78]. Таким образом, изучая защитные эффекты Prdx6 при Д1Т, сопровождающемся разрушением бета-клеток, следует обратить внимание на конститутивную уязвимость клеток поджелудочной железы к повреждающим воздействиям. Естественно, что в условиях пониженной активности эндогенных ферментов-антиоксидантов возрастает интерес к использованию новых белков, таких как Prdx6, обладающих антиоксидантной активностью и, возможно, способных защитить бета-клетки поджелудочной железы при развитии диабета первого типа.

Были проведены системные исследования участия Prdx6 в защите от последствий Д1Т в условиях *in vivo* и *in vitro*. Используя аллоксановую модель тяжёлой формы диабета у мышей, мы показали, что внутривенное введение рекомбинантного Prdx6 предотвращает гипергликемию, снижает смертность мышей, восстанавливает цитокиновый профиль плазмы и снижает дест-

рукцию бета-клеток в островках Лангерганса поджелудочной железы мышей [79]. Кроме того, в условиях *in vitro* Prdx6 защищает бета-клетки RIN-m5F, культивированные с TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , уменьшая продукцию АФК и гибель клеток через апоптоз. Исследование механизма защитной активности фермента показало, что Prdx6 предотвращает активацию сигнальных каскадов NF- $\kappa$ B и JNK в бета-клетках RIN-m5F, культивируемых с цитокинами [80].

Поскольку патологический эффект гипергликемии опосредуется в значительной степени через образование АФК, кажется резонным, что Prdx6 способен в значительной степени редуцировать окислительный стресс у мышей с Д1Т. Действительно, прямые эксперименты по влиянию Prdx6 на уровень АФК в клетках RIN-m5F в присутствии повышенного содержания глюкозы доказали значительное снижение АФК при добавлении Prdx6 в среду культивирования панкреатических бета-клеток [80]. Интересно, что в соответствии с этими результатами ранее было обнаружено, что у пациентов с Д2Т именно колебания уровня глюкозы коррелировали с запуском окислительного стресса в большей степени, чем хроническая устойчивая гипергликемия [81].

Более того, мы показали значительный стимулирующий эффект Prdx6 на инсулин-продуцирующую активность бета-клеток поджелудочной железы. Интересно, что стимулирующая активность Prdx6 была обнаружена как при культивировании бета-клеток RIN-m5F в нормальных условиях, так и в неблагоприятных условиях, вызывающих гибель клеток. Действительно, и в присутствии провоспалительных цитокинов, и в условиях гипергликемии добавление Prdx6 в среду культивирования резко увеличивало сниженную инсулин-продуцирующую активность клеток RIN-m5F [80]. Полагаем, что сам факт инсулин-стимулирующего влияния Prdx6 в отношении панкреатических бета-клеток заслуживает повышенного внимания в плане использования этого белка-антиоксиданта для профилактики диабета у лиц, предрасположенных к этому заболеванию.

Наши исследования с использованием индуцированной стрептозотоцином модели Д1Т у мышей также показали защитный эффект Prdx6 [82]. Благодаря клиническому применению STZ в качестве химиотерапевтического средства известно больше подробностей о механизмах его действия [83]. Из-за своей структуры, похожей на глюкозу, он проникает в бета-клетки таким же образом, как глюкоза и аллоксан, при этом в отличие от аллоксана стрептозотин относительно стабилен [84]. Известно,

что наиболее важным механизмом гибели бета-клеток, вызванным STZ, является не окислительный стресс, а алкилирование ДНК [22, 85].

Несмотря на то что образование АФК при использовании STZ-индуцированного диабета не играет центральной роли, результаты доказывают несомненную защитную эффективность Prdx6. Так, Prdx6 защищает от гибели бета-клетки поджелудочной железы, снижает гипергликемию, нормализует уровень TNF- $\alpha$  в плазме, активность каскада NF- $\kappa$ B и уровень Hsp90 в клетках у мышей с Д1Т, индуцированным STZ [82]. Возможно, эффективность Prdx6 можно объяснить не только антиоксидантными свойствами, но и его фосфолипазной активностью. Кроме того, ранее мы доказали участие NF- $\kappa$ B, а именно RelA/p65, в защите бета-клеток поджелудочной железы у мышей с аллоксан-индуцированным диабетом после введения животным ингибитора активности NF- $\kappa$ B (IKK Inhibitor XII) [86]. В другой работе было продемонстрировано, что нокдаун *PRDX6* увеличивает восприимчивость бета-клеток RIN-m5F к повреждающему воздействию провоспалительных цитокинов и к окислительному стрессу [87]. Ранее было установлено, что среди пероксиредоксинов, экспрессирующихся в клетках RIN-m5F, только уровень Prdx6 модулируется провоспалительными цитокинами, а подавление активности Prdx6 зависит от кальпаина, протеасомных систем и передачи сигналов JNK [88]. Более того, связь между Prdx6 и NF- $\kappa$ B, который является одним из наиболее заметных редокс-зависимых провоспалительных регуляторов, ранее наблюдалась в гипоксических клетках гиппокампа мышей [89]. Кроме того, было показано, что экспрессия Prdx6 обратно коррелирует с активацией NF- $\kappa$ B во время заражения *Clonorchis sinensis* [90]. Доказанный защитный эффект Prdx6 в условиях Д1Т и с использованием бета-клеток RIN-m5F поднимает вопрос о возможности проникновения эндогенного фермента внутрь клетки. Для выяснения этого вопроса был получен рекомбинантный Prdx6, меченный флуоресцеин-5-изотиоцианатом (FITC). Культивирование эмбриональных фибробластов 3T3 с Prdx6-FITC показало, что в нормальных условиях белок связывается с поверхностью клеток 3T3, а также способен проникать внутрь клеток, при этом количество белка, проникающего в клетку, возрастало при увеличении времени культивирования и концентрации добавленного комплекса Prdx6-FITC [91]. Таким образом, рекомбинантный Prdx6 может проникать в клетки и оказывать непосредственное влияние на антиоксидантный статус клеток. Механизм проникновения Prdx6 в клетки требует дальней-

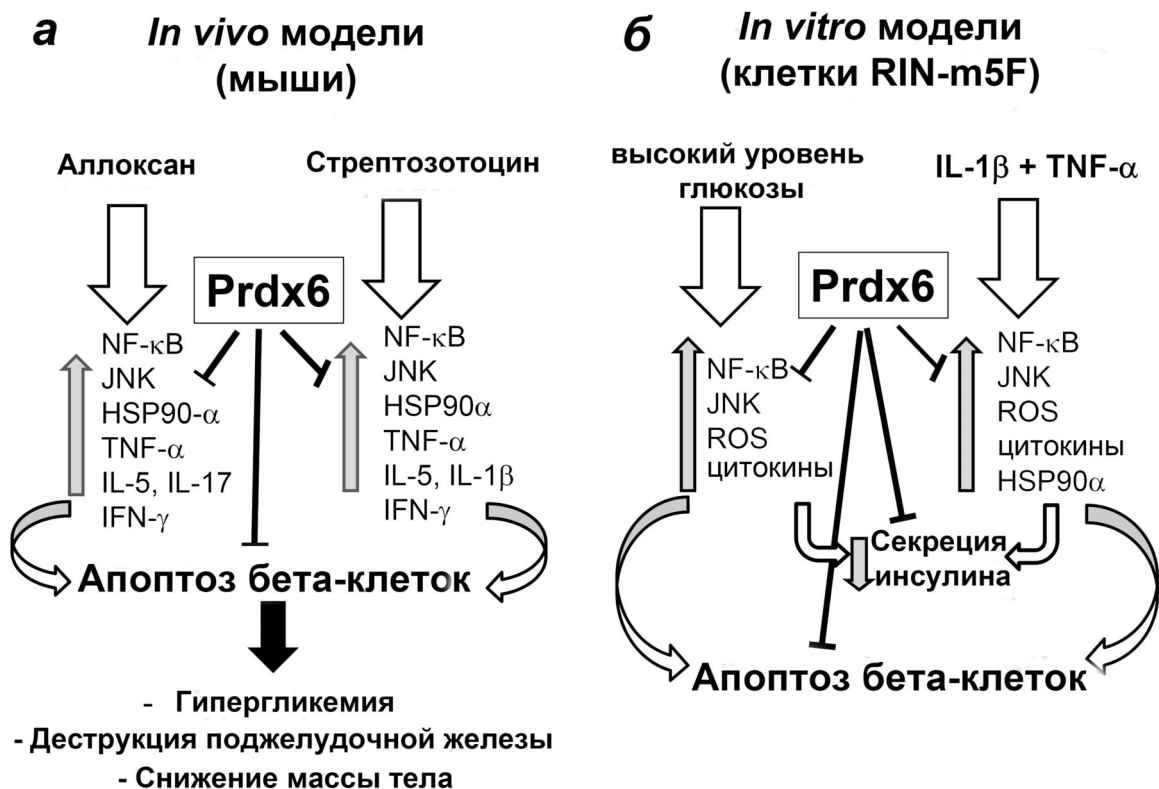
ших детальных исследований, однако, наиболее вероятно, что проникновение Prdx6 в клетки осуществляется благодаря его фосфолипазной активности.

Ранее была установлена важность для развития Д1Т ещё одного сигнального каскада – c-Jun N-терминальной киназы, который активируется в условиях клеточного стресса и участвует в различных типах клеточной гибели. Было показано, что введение мышам стрептозотоцина вызывает резкую активацию JNK, что также считается очень важным фактором гибели бета-клеток при Д1Т [24]. Кроме того, было показано, что JNK также участвует в развитии диабета 1-го и 2-го типов [23]. Именно в STZ-индуцированной модели Д1Т повышение активности JNK-каскада является решающим фактором в гибели бета-клеток [24]. Используя бета-клетки RIN-m5F, мы показали, что Prdx6 предотвращал активацию не только каскада NF- $\kappa$ B, но и активацию JNK в бета-клетках, культивируемых с провоспалительными цитокинами; кроме того, Prdx6 значительно снижал апоптоз этих клеток [80].

Известно, что в клеточном ответе на диабет 1-типа участвуют белки теплового шока, например белок Hsp90 $\alpha$ . Можно предположить, что Hsp90 $\alpha$  является одним из маркёров Д1Т. Действительно, в условиях *in vitro* в бета-клетках RIN-m5F [92], а также в иммунных клетках мышей с STZ-индуцированным Д1Т наблюдали резкое повышение экспрессии белка Hsp90 $\alpha$  [82], при этом Prdx6 полностью нормализовал уровни Hsp90 $\alpha$  в иммунных и бета-клетках. Важно отметить, что уровень этого белка незначительно повышался в условиях предиабета, но именно при развитии диабета наблюдали пик продукции Hsp90 $\alpha$  [86].

Известно, что субстратами для Hsp90 являются сигнальные белки, некоторые из которых активно продуцируются при Д1Т, как было показано нами ранее [93]. Исследования роли отдельных T-клеточных популяций для формирования аутоиммунного воспаления, свойственного для Д1Т, позволили выявить особую функцию Treg-лимфоцитов, которые в кооперации с белками теплового шока регулируют противовоспалительную активность в условиях хронического воспаления [94, 95]. В нашей предыдущей работе сравнивали изменения иммунного статуса у мышей с аллоксан-индуцированным диабетом на двух стадиях его развития – при предиабете и развитием диабете. Доказали, что для предиабета характерно снижение активности Th2 и Treg-популяций T-клеток, но не Th1-лимфоцитов. Напротив, при развитии диабета наблюдали снижение активностей Th1- и Treg-, но не Th2-лимфо-





Пероксиредоксин 6 (Prdx 6) снижает иммунный дисбаланс организма и апоптоз панкреатических бета-клеток при сахарном диабете 1-типа, а также вызывает стимуляцию секреции инсулина в бета-клетках RIN-m5F. Показаны основные мишени сигнальной системы, подвергнутые воздействию Prdx 6 в условиях Д1Т (по результатам работ [79, 80, 82, 86, 92, 93]). а – Диабет 1-типа, индуцированный у мышей BALB/c введением аллоксана или стрептозотозина; б – бета-клетки RIN-m5F, культивированные с добавлением глюкозы или провоспалительных цитокинов (IL-1β и TNF-α)

цитов [86]. С учётом этих сведений можно сделать предположение о том, что вся сложная конфигурация вовлечённости белков теплового шока в реализацию аутоиммунных процессов при Д1Т находится в прямой зависимости от периода развития и степени тяжести этого хронического воспалительного процесса.

Интересно, что группа авторов из Италии с использованием мышей, нокаутных по *PRDX6*, доказала, что этот ген участвует в патогенезе Д2Т, который был индуцирован как сниженной глюкозозависимой секрецией инсулина, так и повышенной инсулинорезистентностью [96, 97]. Полагаем, что эти результаты можно объяснить способностью Prdx6 стимулировать продукцию инсулина в панкреатических бета-клетках [80], что, очевидно, должно влиять на степень инсулинорезистентности, характерной для Д2Т.

В заключение следует отметить, что использование рекомбинантного белка Prdx6 для разных моделей диабета первого типа *in vivo* и *in vitro* вызывает очевидный антидиабетический эффект. Механизм защитного действия Prdx6 включает снижение уровня аутоиммунного от-

вета через подавление активности сигнальных каскадов NF-κB и JNK, уменьшение продукции провоспалительных цитокинов и стрессовых белков, редукцию образования АФК, снижение апоптоза бета-клеток и восстановление секреции инсулина в панкреатических бета-клетках. На уровне организма введение Prdx6 приводит к снижению концентрации глюкозы в крови животных с Д1Т, уменьшает смертность при тяжёлой форме диабета 1-типа и снижает степень деструкции островков Лангерганса поджелудочной железы. Эти закономерности представлены на рисунке. Полагаем, что требуются дальнейшие исследования антидиабетической активности Prdx6 – перспективного препарата при разработке новых лекарств для лечения и профилактики сахарного диабета 1-типа.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Соблюдение этических норм.** Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Cokkinos, D. V., and Pantos, C. (2011) Type 1 diabetes impairs compensatory response after myocardial infarction; role of tissue hypothyroidism and effects of thyroid hormone administration, *Bull. Acad. Natl. Med.*, **195**, 151-164.
- Perlman, A. S., Chevalier, J. M., Wilkinson, P., Liu, H., Parker, T., et al. (2015) Serum inflammatory and immune mediators are elevated in early stage diabetic nephropathy, *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **45**, 256-263.
- Wang, S., Du, S., Wu, Q., Hu, J., and Li, T. (2015) Decorin prevents retinal pigment epithelial barrier breakdown under diabetic conditions by suppressing p38 MAPK activation, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, **56**, 2971-2979, doi: 10.1167/jovs.14-15874.
- King, H., Aubert, R. E., and Herman, W. H. (1998) Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections, *Diabetes Care*, **21**, 1414-1431, doi: 10.2337/diacare.21.9.1414.
- Shapiro, A. M., Lakey, J. R., Ryan, E. A., Korbitt, G. S., Toth, E., et al. (2000) Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using glucocorticoid-free immunosuppressive regimen, *N. Engl. J. Med.*, **343**, 230-238, doi: 10.1056/NEJM200007273430401.
- Dadheech, N., Srivastava, A., Paranjape, N., Gupta, S., Dave, A., et al. (2015) Swertisin an anti-diabetic compound facilitate islet neogenesis from pancreatic stem/progenitor cells via p-38 MAP Kinase-SMAD pathway: an *in vitro* and *in vivo* study, *PLoS One*, **10**, e0128244, doi: 10.1371/journal.pone.0128244.
- Eizirik, D. L., and Mandrup-Poulsen, T. (2001) A choice of death – the signal transduction of immune-mediated beta-cell apoptosis, *Diabetologia*, **44**, 2115-2133, doi: 10.1007/s001250100021.
- Cone, J. B. (2001) Inflammation, *Am. J. Surg.*, **182**, 558-562, doi: 10.1016/s0002-9610(01)00822-4.
- Eizirik, D. L., Colli, M. L., and Ortis, F. (2009) The role of inflammation in insulinitis and beta-cell loss in type 1 diabetes, *Nat. Rev. Endocrinol.*, **5**, 219-226, doi: 10.1038/nrendo.2009.21.
- Kleinert, M., Clemmensen, C., Hofmann, S. M., Moore, M. C., Renner, S., et al. (2018) Animal models of obesity and diabetes mellitus, *Nat. Rev. Endocrinol.*, **14**, 140-162, doi: 10.1038/nrendo.2017.161.
- Furman, B. L. (2015) Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats, *Curr. Protoc. Pharmacol.*, **70**, 5.47.1-5.47.20, doi: 10.1002/0471141755.ph0547s70.
- Diab, R. A., Fares, M., Abedi-Valugerdi, M., Kumagai-Braesch, M., Holgersson, J., et al. (2015) Immunotoxicological effects of streptozotocin and alloxan: *in vitro* and *in vivo* studies, *Immunol. Lett.*, **163**, 193-198, doi: 10.1016/j.imlet.2014.12.006.
- Pearson, J. A., Wong, F. S., and Wen, L. (2016) The importance of the Non Obese Diabetic (NOD) mouse model in autoimmune diabetes, *J. Autoimmun.*, **66**, 76-88, doi: 10.1016/j.jaut.2015.08.019.
- Bergholdt, R., Nerup, J., and Pociot, F. (2005) Fine mapping of a region on chromosome 21q21.11-q22.3 showing linkage to type 1 diabetes, *J. Med. Genet.*, **42**, 17-25, doi: 10.1136/jmg.2004.022004.
- Steck, A. K., and Rewers, M. J. (2011) Genetics of type 1 diabetes, *Clin. Chem.*, **57**, 176-185, doi: 10.1373/clinchem.2010.148221.
- Barret, J. C., Clayton, D. G., Concannon, P., Akolkar, B., Cooper, J. D., et al. (2009) Genome-wide association study and meta-analysis find that over 40 loci affect risk of type 1 diabetes, *Nat. Genet.*, **41**, 703-707, doi: 10.1038/ng.381.
- Imkampe, A. K., and Gulliford, M. C. (2011) Trends in type 1 diabetes incidence in the UK in 0- to 14-year-olds and in 15- to 34-year-olds, 1991-2008, *Diabet. Med.*, **28**, 811-814, doi: 10.1111/j.1464-5491.2011.03288.x.
- Adams, D. D., Adams, Y. J., Knight, J. G., McCall, J., White, P., et al. (1984) A solution to the genetic and environmental puzzles of insulin-dependent diabetes mellitus, *Lancet*, **323**, 420-424, doi: 10.1016/s0140-6736(84)91753-7.
- Rewers, M., and Ludvigsson, J. (2016) Type 1 diabetes. Environmental risk factors for type 1 diabetes, *Lancet*, **387**, 2340-2348, doi: 10.1016/S0140-6736(16)30507-4.
- Pietro Paolo, M., Surhigh, J. M., Nelson, P. W., and Eisenbarth, G. S. (2008) Primer: immunity and autoimmunity, *Diabetes*, **57**, 2872-2882, doi: 10.2337/db07-1691.
- Zipris, D. (2008) Innate immunity and its role in type 1 diabetes, *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.*, **15**, 326-331, doi: 10.1097/MED.0b013e3283073a46.
- Delaney, C. A., Dunger, A., Di Matteo, M., Cunningham, J. M., Green, M. H., et al. (1995) Comparison of inhibition of glucose-stimulated insulin secretion in rat islets of Langerhans by streptococin and methyl and ethyl nitrosoureas and methanesulphonates. Lack of correlation with nitric oxide-releasing or O6-alkylating ability, *Biochem. Pharmacol.*, **50**, 2015-2020, doi: 10.1016/0006-2952(95)02102-7.
- Jaeschke, A., Rincón, M., Doran, B., Reilly, J., Neuberg, D., et al. (2005) Disruption of the Jnk2 (Mapk9) gene reduces destructive insulinitis and diabetes in a mouse model of type I diabetes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 6931-6935, doi: 10.1073/pnas.0502143102.
- Cheon, H., Cho, J. M., Kim, S., Baek, S. H., Lee, M. K., et al. (2010) Role of JNK activation in pancreatic beta-cell death by streptococin, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **321**, 131-137, doi: 10.1016/j.mce.2010.02.016.
- Akira, S., Uematsu, S., and Takeuchi, O. (2006) Pathogen recognition and innate immunity, *Cell*, **124**, 783-801, doi: 10.1016/j.cell.2006.02.015.
- Takeda, K., Kaisho, T., and Akira, S. (2003) Toll-like receptors, *Annu. Rev. Immunol.*, **21**, 335-376, doi: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141126.
- Medzhitov, R., and Janeway, Jr. C. A. (1997) Innate immunity: impact on the adaptive immune response, *Curr. Opin. Immunol.*, **9**, 4-9, doi: 10.1016/s0952-7915(97)80152-5.
- De Nardo, D. (2015) Toll-like receptors: activation, signalling and transcriptional modulation, *Cytokine*, **74**, 181-189, doi: 10.1016/j.cyto.2015.02.025.
- Lien, E., and Zipris, D. (2009) The role of toll-like receptor pathways in the mechanism of type 1 diabetes, *Curr. Mol. Med.*, **9**, 52-68, doi: 10.2174/156652409787314453.
- Morran, M. P., Omenn, G. S., and Pietro Paolo, M. (2008) Immunology and genetics of type 1 diabetes, *Mt. Sinai. J. Med.*, **75**, 314-327, doi: 10.1002/msj.20052.
- Meyers, A. J., Shah, R. R., Gottlieb, P. A., and Zipris, D. (2010) Altered Toll-like receptor signaling pathways in human type 1 diabetes, *J. Mol. Med. (Berl)*, **88**, 1221-1231, doi: 10.1007/s00109-010-0666-6.
- Dong, B., Qi, D., Yang, L., Huang, Y., Xiao, X., et al. (2012) TLR4 regulates cardiac lipid accumulation and diabetic heart disease in the nonobese diabetic mouse model of type 1 diabetes, *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **303**, H732-742, doi: 10.1152/ajpheart.00948.2011.
- Xie, Z., Huang, G., Wang, Z., Luo, S., Zheng, P., and Zhou, Z. (2018) Epigenetic regulation of Toll-like receptors and its roles in type 1 diabetes, *J. Mol. Med. (Berl)*, **96**, 741-751, doi: 10.1007/s00109-018-1660-7.
- Devaraj, S., Dasu, M. R., Rockwood, J., Winter, W., Griffen, S. C., et al. (2008) Increased toll-like receptor

- (TLR) 2 and TLR4 expression in monocytes from patients with type 1 diabetes: further evidence of a proinflammatory state, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **93**, 578-583, doi: 10.1210/jc.2007-2185.
35. Wong, F. S., Hu, C., Zhang, L., Du, W., Alexopoulou, L., et al. (2008) The role of Toll-like receptors 3 and 9 in the development of autoimmune diabetes in NOD mice, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1150**, 146-148, doi: 10.1196/annals.1447.039.
  36. Tai, N., Wong, F. S., and Wen, L. (2016) The role of the innate immune system in destruction of pancreatic beta cells in NOD mice and humans with type 1 diabetes, *J. Autoimmun.*, **71**, 26-34, doi: 10.1016/j.jaut.2016.03.006.
  37. Kim, Y. H., Kim, S., Kim, K. A., Yagita, H., Kayagaki, N., et al. (1999) Apoptosis of pancreatic beta-cells detected in accelerated diabetes of NOD mice: no role of Fas-Fas ligand interaction in autoimmune diabetes, *Eur. J. Immunol.*, **29**, 455-465, doi: 10.1002/(SICI)1521-4141(199902)29:02<455::AID-IMMU455>3.0.CO;2-A.
  38. O'Brien, B. A., Harmon, B. V., Cameron, D. P., and Allan, D. J. (1997) Apoptosis is the mode of beta-cell death responsible for the development of IDDM in the non-NLRP3 obese diabetic (NOD) mouse, *Diabetes*, **46**, 750-757, doi: 10.2337/diab.46.5.750.
  39. Gepts, W. (1965) Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus, *Diabetes*, **14**, 619-633, doi: 10.2337/diab.14.10.619.
  40. Drescher, K. M., and Tracy, S. (2008) The CVB and Etiology of Type 1 Diabetes, in *Group B Coxsackieviruses. Current Topics in Microbiology and Immunology* (Tracy, S., Oberste, M. S., and Drescher, K. M., eds.) Vol 323, Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 259-274, doi: 10.1007/978-3-540-75546-3\_12.
  41. Hosokawa, Y., Hanafusa, T., and Imagawa, A. (2019) Pathogenesis of fulminant type 1 diabetes: Genes, viruses and the immune mechanism, and usefulness of patient-derived induced pluripotent stem cells for future research, *J. Diabetes. Invest.*, **10**, 1158-1164, doi: 10.1111/jdi.13091.
  42. Trudeau, J. D., Dutz, J. P., Arany, E., Hill, D. J., Fieldus, W. E., et al. (2000) Neonatal beta-cell apoptosis: a trigger for autoimmune diabetes? *Diabetes*, **49**, 1-7, doi: 10.2337/diabetes.49.1.1.
  43. Turley, S., Poirot, L., Hattori, M., Benois, C., and Mathis, D. (2003) Physiological beta cell death triggers priming of self-reactive T cells by dendritic cells in a type-1 diabetes model, *J. Exp. Med.*, **198**, 1527-1537, doi: 10.1084/jem.20030966.
  44. O'Brien, B. A., Huang, Y., Geng, X., Dutz, J. P., and Finegood, D. T. (2002) Phagocytosis of apoptotic cells by macrophages from NOD mice is reduced, *Diabetes*, **51**, 2481-2488, doi: 10.2337/diabetes.51.8.2481.
  45. Kim, H. S., Han, M. S., Chung, K. W., Kim, S., Kim, E., et al. (2007) Toll-like receptor 2 senses beta-cell death and contributes to the initiation of autoimmune diabetes, *Immunity*, **27**, 321-333, doi: 10.1016/j.immuni.2007.06.010.
  46. Lee, M. S., Kim, D. H., Lee, J. C., Kim, S., and Kim, H. S. (2011) Role of TLR2 in the pathogenesis of autoimmune diabetes and its therapeutic implication, *Diabetes Metab. Res. Rev.*, **27**, 797-801, doi: 10.1002/dmrr.1231.
  47. Sims, E. K., Evans-Molina, C., Tersey, S. A., Eizirik, D. L., and Mirmira, R. G. (2018) Biomarkers of islet beta cell stress and death in type 1 diabetes, *Diabetologia*, **61**, 2259-2265, doi: 10.1007/s00125-018-4712-1.
  48. Mirmira, R. G., Sims, E. K., Syed, F., and Evans-Molina, C. (2016) Biomarkers of  $\beta$ -cell stress and death in type 1 diabetes, *Curr. Diab. Rep.*, **16**, 95, doi: 10.1007/s11892-016-0783-x.
  49. Brownlee, M. (2001) Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications, *Nature*, **414**, 813-820, doi: 10.1038/414813a.
  50. Lankin, V. Z., and Tikhaze, A. K. (2017) Role of oxidative stress in the genesis of atherosclerosis and diabetes mellitus: a personal look back on 50 years of research, *Curr. Aging. Sci.*, **10**, 18-25, doi: 10.2174/1874609809666160926142640.
  51. Miranda-Díaz, A. G., Pazarín-Villaseñor, L., Yanowsky-Escatell, F. G., and Andrade-Sierra, J. (2016) Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease, *J. Diabetes Res.*, **2016**, 7047238, doi: 10.1155/2016/7047238.
  52. Maise, K. (2015) New insights for oxidative stress and diabetes mellitus, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2015**, 875961, doi: 10.1155/2015/875961.
  53. Savastio, S., Cadario, F., Genoni, G., Bellomo, G., Bagnati, M., et al. (2016) Vitamin D deficiency and glycemic status in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus, *PLoS One*, **11**, e0162554, doi: 10.1371/journal.pone.0162554.
  54. Ceriello, A. (2003) New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" antioxidant therapy, *Diabetes Care*, **26**, 1589-1596, doi: 10.2337/diacare.26.5.1589.
  55. Boudina, S., and Abel, E. D. (2007) Diabetic cardiomyopathy revisited, *Circulation*, **115**, 3213-3223, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.679597.
  56. Kaneto, H., Matsuoka, T. A., Katakami, N., Kawamori, D., Miyatsuka, T., et al. (2007) Oxidative stress and the JNK pathway are involved in the development of type 1 and type 2 diabetes, *Curr. Mol. Med.*, **7**, 674-686, doi: 10.2174/156652407782564408.
  57. Brownlee, M. (1995) Advanced protein glycosylation in diabetes and aging, *Annu. Rev. Med.*, **46**, 223-234, doi: 10.1146/annurev.med.46.1.223.
  58. Dallak, M. M., Mikhailidis, D. P., Haidara, M. A., Bin-Jaliliah, I. M., Tork, O. M., et al. (2008) Oxidative stress as a common mediator for apoptosis induced-cardiac damage in diabetic rats, *Open Cardiovasc. Med. J.*, **2**, 70-78, doi: 10.2174/1874192400802010070.
  59. Johansen, J. S., Harris, A. K., Rychly, D. J., and Ergul, A. (2005) Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice, *Cardiovasc. Diabetol.*, **4**, 5-11, doi: 10.1186/1475-2840-4-5.
  60. Forstermann, U. (2008) Oxidative stress in vascular disease: causes, defence mechanisms and potential therapies, *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.*, **5**, 338-349, doi: 10.1038/ncpcardio1211.
  61. Karunakaran, U., and Park, K. G. (2013) A systematic review of oxidative stress and safety of antioxidants in diabetes: focus on islets and their defense, *Diabetes Metab. J.*, **37**, 106-112, doi: 10.4093/dmj.2013.37.2.106.
  62. Wojnar, W., Zych, M., and Kaczmarczyk-Sedlak, I. (2018) Antioxidative effect of flavonoid naringenin in the lenses of type 1 diabetic rats, *Biomed. Pharmacother.*, **108**, 974-984, doi: 10.1016/j.biopha.2018.09.092.
  63. Czerwińska, M. E., Gasińska, E., Leśniak, A., Krawczyk, P., Kiss, A. K., et al. (2018) Inhibitory effect of Ligustrum vulgare leaf extract on the development of neuropathic pain in a streptozotocin-induced rat model of diabetes, *Phytomedicine*, **49**, 75-82, doi: 10.1016/j.phymed.2018.06.006.
  64. Rochette, L., Zeller, M., Cottin, Y., and Vergely, C. (2014) Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1840**, 2709-2729, doi: 10.1016/j.bbagen.2014.05.017.
  65. Thakur, P., Kumar, A., and Kumar, A. (2018) Targeting oxidative stress through antioxidants in diabetes mellitus, *J. Drug. Target.*, **26**, 766-776, doi: 10.1080/1061186X.2017.1419478.
  66. Piganelli, J. D., Flores, S. C., Cruz, C., Koepp, J., Batinic-Haberle, I., Crapo, J., et al. (2002) A metallopor-

- phyrin-based superoxide dismutase mimic inhibits adoptive transfer of autoimmune diabetes by a diabetogenic T-cell clone, *Diabetes*, **51**, 347-355, doi: 10.2337/diabetes.51.2.347.
67. Mahadevan, J., Parazzoli, S., Oseid, E., Hertz, A. V., Bernlohr, D. A., et al. (2013) Ebselen treatment prevents islet apoptosis, maintains intranuclear Pdx1 and MafA levels, and preserves  $\beta$ -cell mass and function in ZDF rats, *Diabetes*, **62**, 3582-3588, doi: 10.2337/db13\_0357.
  68. Gordeeva, A. E., Sharapov, M. G., Tikhonova, I. V., Chemeris, N. K., Fesenko, E. E., et al. (2017) Vascular pathology of ischemia/reperfusion injury of rat small intestine, *Cells Tissues Organs*, **203**, 353-364, doi: 10.1159/000455830.
  69. Sharapov, M. G., Goncharov, R. G., Gordeeva, A. E., Novoselov, V. I., Antonova, O. A., et al. (2016) Enzymatic antioxidant system of endotheliocytes, *Dokl. Biochem. Biophys.*, **471**, 410-412, doi: 10.1134/S1607672916060090.
  70. Karaduleva, E. V., Mubarakshina, E. K., Sharapov, M. G., Volkova, A. E., Pimenov, O. Y., et al. (2016) Cardioprotective effect of modified peroxiredoxins in retrograde perfusion of isolated rat heart under conditions of oxidative stress, *Bull. Exp. Biol. Med.*, **160**, 639-642, doi: 10.1007/s10517-016-3237-1.
  71. Fisher, A. B., Vasquez-Medina, J. P., Dodia, C., Sorokina, E. M., Tao, J.-Q., et al. (2018) Peroxiredoxin 6 phospholipid hydroperoxidase activity in the repair of peroxidized cell membranes, *Redox Biol.*, **14**, 41-46, doi: 10.1016/j.redox.2017.08.008.
  72. Fisher, A. B. (2017) Peroxiredoxin 6 in the repair of peroxidized cell membranes and cell signaling, *Arch. Biochem. Biophys.*, **617**, 68-83, doi: 10.1016/j.abb.2016.12.003.
  73. Wang, Y., Feinstein, S. I., Manevich, Y., Ho, Y.-S., and Fisher, A. B. (2004) Lung injury and mortality with hyperoxia are increased in peroxiredoxin 6 gene-targeted mice, *Free Radic. Biol. Med.*, **37**, 1736-1743, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.09.006.
  74. Liu, G., Feinstein, S. I., Wang, Y., Dodia, C., Fisher, D., et al. (2010) Comparison of glutathione peroxidase 1 and peroxiredoxin 6 in protection against oxidative stress in the mouse lung, *Free Radic. Biol. Med.*, **49**, 1172-1181, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.07.002.
  75. Kaneto, H., Kajimoto, Y., Miyagawa, J., Matsuoka, T., Fujitani, Y., et al. (1999) Beneficial effects of antioxidants in diabetes – possible protection of pancreatic beta-cells against glucose toxicity, *Diabetes*, **48**, 2398-2406, doi: 10.2337/diabetes.48.12.2398.
  76. Lei, X. G., and Vatamaniuk, M. Z. (2011) Two tales of antioxidant enzymes on  $\beta$  cells and diabetes, *Antioxid. Redox. Signal.*, **14**, 489-503, doi: 10.1089/ars.2010.3416.
  77. Miki, A., Ricordi, C., Sakuma, Y., Yamamoto, T., Misawa, R., et al. (2018) Divergent antioxidant capacity of human islet cell subsets: a potential cause of beta-cell vulnerability in diabetes and islet transplantation, *PLoS One*, **13**, e0196570, doi: 10.1371/journal.pone.0196570.
  78. Malaisse, W. J., Malaisse-Lagae, F., Sener, A., and Pipeleers, D. G. (1982) Determinants of the selective toxicity of alloxan to the pancreatic B cell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 927-930, doi: 10.1073/pnas.79.3.927.
  79. Novoselova, E. G., Glushkova, O. V., Lunin, S. M., Khrenov, M. O., Parfenyuk, S. B., et al. (2020) Peroxiredoxin 6 attenuates alloxan-induced type 1 diabetes mellitus in mice and cytokine-induced cytotoxicity in RIN-m5F beta cells, *J. Diabetes Res.*, **2020**, 7523892, doi: 10.1155/2020/7523892.
  80. Novoselova, E. G., Glushkova, O. V., Parfenyuk, S. B., Khrenov, M. O., Lunin, S. M., et al. (2019) Protective effect of peroxiredoxin 6 against toxic effects of glucose and cytokines in pancreatic RIN-m5F  $\beta$ -cells, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 637-643, doi: 10.1134/S0006297919060063.
  81. Monnier, L., Mas, E., Ginnet, C., Michel, F., Villon, L., et al. (2006) Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes, *JAMA*, **295**, 1681-1687, doi: 10.1001/jama.295.14.1681.
  82. Novoselova, E. G., Glushkova, O. V., Lunin, S. M., Khrenov, M. O., Parfenyuk, S. B., et al. (2021) Thymulin and peroxiredoxin 6 have protective effects against streptozotocin induced type 1 diabetes in mice, *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **35**, 1-10, doi: 10.1177/20587384211005645.
  83. Radenković, M., Stojanović, M., and Prostran, M. (2016) Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: the current state of the art, *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **78**, 13-31, doi: 10.1016/j.vascn.2015.11.004.
  84. Lenzen, S. (2008) The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes, *Diabetologia*, **51**, 216-226, doi: 10.1007/s00125-007-0886-7.
  85. Elsner, M., Guldbakke, B., Tiedge, M., Munday, R., and Lenzen, S. (2000) Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin, *Diabetologia*, **43**, 1528-1533, doi: 10.1007/s00125005156.
  86. Novoselova, E. G., Glushkova, O. V., Lunin, S. M., Khrenov, M. O., Novoselova, T. V., et al. (2016) Signaling, stress response and apoptosis in pre-diabetes and diabetes: restoring immune balance in mice with alloxan-induced type 1 diabetes mellitus, *Int. Immunopharmacol.*, **31**, 24-31, doi: 10.1016/j.intimp.2015.11.007.
  87. Katunuma, N., Matsui, A., Le, Q. T., Utsumi, K., Salvesen, G., et al. (2001) Novel procaspase-3 activating cascade mediated by lysoapoptases and its biological significances in apoptosis, *Adv. Enzyme Regul.*, **41**, 237-250, doi: 10.1016/S0065-2571(00)00018-2.
  88. Paula, F. M., Ferreira, S. M., Boschero, A. C., and Souza, K. L. (2013) Modulation of the peroxiredoxin system by cytokines in insulin-producing RINm5F cells: down-regulation of PRDX6 increases susceptibility of beta cells to oxidative stress, *Mol. Cell. Endocrinol.*, **374**, 56-64, doi: 10.1016/j.mce.2013.04.009.
  89. Chhunchha, B., Fatma, N., Kubo, E., Rai, P., Singh, S. P., et al. (2013) Curcumin abates hypoxia-induced oxidative stress based-ER stress-mediated cell death in mouse hippocampal cells (HT22) by controlling Prdx6 and NF-kappaB regulation, *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, **304**, 636-655, doi: 10.1152/ajpcell.00345.2012.
  90. Pak, J. H., Son, W. C., Seo, S. B., Hong, S. J., Sohn, W. M., et al. (2016) Peroxiredoxin 6 expression is inversely correlated with nuclear factor-kappaB activation during *Clonorchis sinensis* infestation, *Free Radic. Biol. Med.*, **99**, 273-285, doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.08.016.
  91. Sharapov, M. G., Glushkova, O. V., Parfenyuk, S. B., Gudkov, S. V., Lunin, S. M., et al. (2021) The role of TLR4/ NF- $\kappa$ B signaling in the radioprotective effects of exogenous Prdx6, *Arch. Biochem. Biophys.*, **702**, 108830, doi: 10.1016/j.abb.2021.108830.
  92. Novoselova, E. G., Glushkova, O. V., Khrenov, M. O., Parfenyuk, S. B., Lunin, S. M., et al. (2020) Participation of Hsp70 and Hsp90 $\alpha$  heat shock proteins in stress response in the course of type 1 diabetes mellitus, *Dokl. Biol. Sci.*, **493**, 124-127, doi: 10.1134/S0012496620040079.
  93. Novoselova, E. G., Khrenov, M. O., Parfenyuk, S. B., Novoselova, T. V., Lunin, S. M., et al. (2014) The NF- $\kappa$ B, IRF3, and SAPK/JNK signaling cascades of animal immune cells and their role in the progress of type 1 diabetes mellitus, *Dokl. Biol. Sci.*, **457**, 255-257, doi: 10.1134/S0012496614040073.
  94. Wieten, L., Broere, F., van der Zee, R., Koerkamp, E. K., Wagenaar, J., et al. (2007) Cell stress induced HSP

- are targets of regulatory T cells: a role for HSP inducing compounds as anti-inflammatory immuno-modulators, *FEBS Lett.*, **581**, 3716-3722, doi: 10.1016/j.febslet.2007.04.082.
95. Van Eden, W., Wick, G., Albani, S., and Cohen, I. (2007) Stress, heat shock proteins, and autoimmunity: how immune responses to heat shock proteins are to be used for the control of chronic inflammatory diseases, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1113**, 217-237, doi: 10.1196/annals.1391.020.
96. Pacifici, F., Arriga, R., Sorice, G. P., Capuani, B., Scioli, M. G., et al. (2014) Peroxiredoxin 6, a novel player in the pathogenesis of diabetes, *Diabetes*, **63**, 3210-3220, doi: 10.2337/db14-0144.
97. Arriga, A., Pacifici, F., Capuani, B., Coppola, A., Orlandi, A., et al. (2019) Peroxiredoxin 6 is a key antioxidant enzyme in modulating the link between glycemic and lipogenic metabolism, *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2019**, 9685607, doi: 10.1155/2019/9685607.

## THE ROLE OF INNATE IMMUNITY AND OXIDATIVE STRESS IN THE DEVELOPMENT OF TYPE 1 DIABETES MELLITUS. PEROXIREDOXIN 6 AS A NEW ANTI-DIABETIC AGENT

### Review

**E. G. Novoselova\*, O. V. Glushkova, M. O. Khrenov,  
S. M. Lunin, T. V. Novoselova, and S. B. Parfenuyk**

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, 142290 Pushchino,  
Moscow Region, Russia; E-mail: elenanov\_06@mail.ru*

The review discusses information on the development of type 1 diabetes mellitus (T1D) as a systemic autoimmune and inflammatory disease. The review focuses on the role of the innate immune system, including the activation of some signaling cascades, cytokine response, and the activity of Toll-like receptors in the development of T1D. Dysfunction of innate immunity is the cause of the attack of T-lymphocytes on the own pancreatic beta cells and leads to the death of pancreatic beta cells that produce insulin. Lack of insulin causes hyperglycemia and the need for life-long injections of insulin in patients with T1D, which, nevertheless, does not exclude damage to many organs and tissues, given the particular vulnerability of blood vessels in conditions of hyperglycemia. The review discusses the role of oxidative stress as a factor that plays a major role in damage to the vascular system and pancreatic tissue during the development of T1D. Taking into account the special vulnerability of pancreatic beta cells to the action of ROS, the possibility of using antioxidants to reduce the level of pathological consequences of the development of T1D is discussed. New information on the anti-diabetic activity of the exogenous antioxidant enzyme peroxiredoxin 6, which is capable of penetrating cells, activating insulin production in beta cells, reducing ROS levels, as well as decreasing the activation of some signaling cascades, the production of pro-inflammatory cytokines, and the expression of Toll-like receptors in beta cells and in immune cells under T1D development is discussed.

*Keywords:* peroxiredoxin 6, hyperglycemia, cytokines, RIN-m5F beta cells, insulin production, NF- $\kappa$ B and JNK signaling cascades