

# Рецепция и внутриклеточные механизмы действия инсулина (Часть 2)

Н.Д. Тронько,  
Е.И. Ковзун,  
В.В. Пушкарёв,  
Л.К. Соколова,  
В.М. Пушкарёв

ГУ «Институт эндокринологии и обмена веществ им. В.П. Комиссаренко НАМН Украины»

**Резюме.** В обзоре анализируются механизмы, участвующие в рецепции и проведении сигналов инсулина в клетках-мишенях. Описывается структура рецептора, механизм его активации и передачи сигнала гормона нижележащим звеньям инсулинового каскада. Охарактеризованы основные сигнальные пути, участвующие в трансдукции, усилении и подавлении сигнала инсулина. В качестве иллюстраций используются в основном постеры cellsignal.com как наиболее полные и проработанные.

**Ключевые слова:** рецепторы инсулина, субстраты рецептора инсулина, сигнальные пути инсулина, инсулинорезистентность.

## Ras/MAPK каскад

С тирозинкиназными (ТК) рецепторами сопряжен адаптерный механизм, включающий суперсемейство малых GTP-связывающих белков, наиболее известным представителем которых является Ras (**рис. 4**). Последний известен прежде всего как онкоген, мутации которого встречаются во многих типах опухолей. Это обстоятельство показывает, что Ras находится в ключевом участке механизма, передающего с мембранных рецепторов сигналы критической важности для жизнедеятельности клетки. Ras, в свою очередь, активируется системой адаптеров Grb2 и SOS [1, 2]. Активированные рецепторы и белки IRS обладают местами стыковки адапторных молекул,

которые содержат домены SH2 — Grb2 и Shc. Карбокситерминальный SH3-домен Grb2 связывается с белками, такими как Gab-1, тогда как аминоконцевой SH3-домен связывается с богатыми пролином областями белка SOS (son-of-sevenless). SOS представляет собой фактор обмена гуанинового нуклеотида (GEF) для Ras, катализирующий переключатель связанного с мембраной Ras из неактивной, связанной с GDP формы (Ras-GDP) в активную GTP-связанную форму (Ras-GTP). Дальнейший перенос сигнала инсулина с Ras на внутриклеточные процессы осуществляет второй по значимости каскад Raf/MEK/MAPK, инициирующий пролиферативные процессы и активирующийся независимо от каскада PI3K/Akt [3].

Первое звено каскада — протеинкиназа c-Raf (B-Raf, A-Raf), активируется непосред-

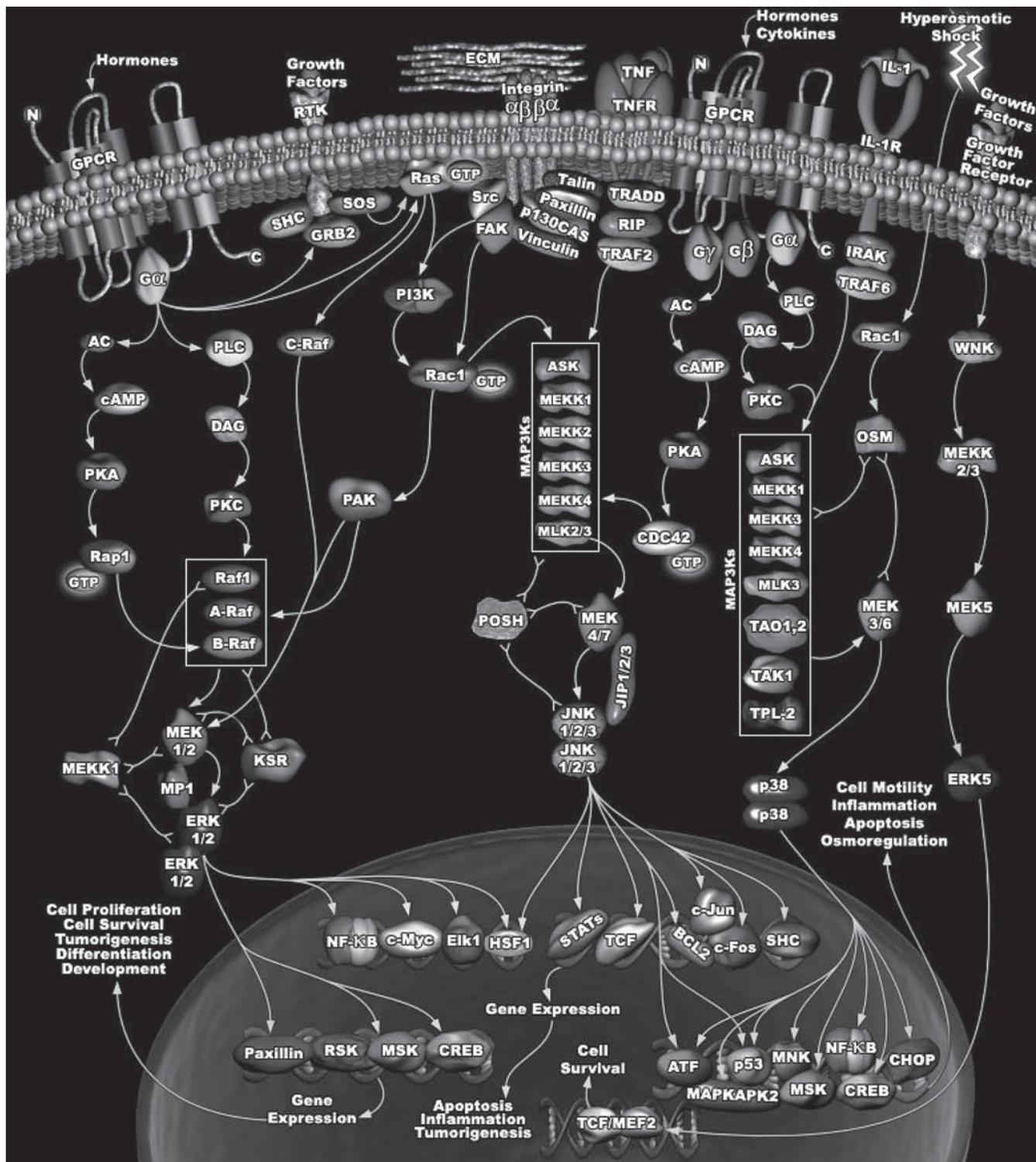
\* Адреса для листування (Correspondence): ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», вул. Вишгородська, 69, м. Київ, 04114, Україна. E-mail: pushkarev.vm@gmail.com

Обгляди

ственно Ras-GTP, последнее — митоген-активируемая протеинкиназа ERK, которая транслоцируется в ядро, где ее субстратами выступают факторы транскрипции (рис. 4). Этот каскад является стандартным путем пе-

реноса пролиферативного сигнала при стимуляции клеток как инсулином, так и ростовыми факторами [4-6].

Поскольку «включение/выключение» Ras — очень ответственный пункт регуляции, понят-



**Рис. 4.** Сигнальные пути основной эффекторной протеинкиназы сигнального каскада MAPK/ERK (Biologend.com). Пояснения в тексте.

но, что должна существовать надежная система его положительного и отрицательного контроля. Таковая существует в виде адаптерных белковых модулей. Положительный контроль обеспечивает комплекс Grb2-SOS, который может соединяться с фосфорилированными Shc и IRS. Белок Grb2 имеет участок, способный связываться с фрагментом молекулы активированного рецептора, который содержит в определенном аминокислотном контексте фосфотирозин. Такие участки есть у многих регуляторных белков — это SH2-домены. Взаимодействия такого рода осуществляют перенос сигнала. Это универсальный принцип, лежащий в основе функционирования всех сигнальных каскадов с участием ТК. Белок SOS осуществляет перевод Ras в активную GTP-форму. Активация зависит от пространственной близости белков и ослабления аутоингибирования SOS [2]. Противоположный процесс — гидролиз GTP и перевод Ras в неактивную форму GDP-Ras, находится под контролем белка-активатора GTP-азной активности — GAP.

Негативный контроль осуществляется также посредством адаптеров Grb10/14, связывание которых с аутофосфорилированным рецептором происходит через SH2-домены, что приводит к ингибированию ТК-активности и фосфорилирования IRS. Grb10 дополнительно способствует деградации рецепторов, привлекая убиквитин-лигазу NEDD4 [7]. Мутационный анализ показал, что у мышей Grb10 и Grb14 действуют как ингибиторы сигналинга инсулина *in vivo* [8]. С другой стороны, белки Grb10/14 защищают фосфобелки в регуляторной петле ТК от дефосфорилирования, продлевая активность рецептора [9].

Смысл столь сложной системы регуляции ясен — активация/инактивация Ras лежит в основе механизмов, способных инициировать процесс клеточного деления или, в зависимости от обстоятельств, механизм самоуничтожения клетки. Это убедительно доказывают патологические ситуации: дефекты в молекуле Ras в результате мутаций могут вывести его из-под контроля описанного механизма и вызвать трансформацию клетки [10].

Подобным образом — через адаптерный белковый механизм, в основе которого лежит взаимодействие определенных участков на рецепторе, содержащих фосфотирозин, с ком-

плементарным ему SH2-доменом на другом белке, осуществляется передача сигнала инсулина с ТК-рецептора и на другие сигнальные каскады.

### Протеинкиназа С

Важным мессенджерным путем является активация инсулином фосфолипазы С, молекула которой также содержит SH2-домен. Инсулин и ростовые факторы активируют гидролиз мембранных фосфолипидов с высвобождением липидных мессенджеров и последующей активацией протеинкиназы С. Изоформы РКС являются как медиаторами, так и модуляторами метаболического действия инсулина. Из трех основных классов РКС атипичные РКС (аРКС), РКС-ξ и РКС-λ/ι активируются PDK-1 посредством фосфорилирования. Важную роль в стимулированном инсулином переносе глюкозы и регуляции синтеза липидов играют аРКС, а их экспрессия и активация уменьшаются в мышцах у людей с ожирением и диабетом [11]. Было показано, что как РКС-λ, так и РКС-ξ функционируют взаимозаменяемо, опосредуя индуцированный инсулином перенос глюкозы. Специфическая для мышц делеция РКС-λ у мышей приводит к нарушению инсулинзависимого поглощения глюкозы и к ИР [12]. У мышей со специфической для печени делецией РКС-λ снижались индуцированная инсулином экспрессия SREBP1c и содержание триглицеридов в печени, что приводило к повышению чувствительности к инсулину [1].

### САР/Сbl каскад

Важным сигнальным каскадом, регулирующим транспорт глюкозы под действием инсулина, является САР/Сbl (Casitas b-lineage lymphoma). Этот путь инициируется фосфорилированием остатков тирозина адаптеров APS и c-Cbl, что приводит к образованию сигнального комплекса, который удерживается в липидных рафтах c-Cbl-ассоциированным белком (САР). Результатом формирования такого комплекса является активация TC10 из Rho-семейства малых GTPаз, взаимодействующих с цитоскелетом [13]. Сеть микротрубочек и актиновый цитоскелет играют важную роль в транспорте GLUT-4, либо связывая компоненты передачи сигнала, либо направляя движение везикул из околядерной области к плазматической мембране в ответ на

## Огляди

действие инсулина. Актин участвует в транслокации GLUT-4 к плазматической мембране, которая регулируется посредством малых G-белков TC10 $\alpha$  и TC10 $\beta$  путем сборки экзоцист и образования фосфатидилинозитол-3-фосфата (**рис. 1**). Показано также, что протеины микротрубочек кинезины KIF5b и KIF3 облегчают стимулированное инсулином перемещение GLUT-4 к плазматической мембране [14]. Таким образом, вполне возможно, что молекулярные переносчики двигают везикулы GLUT-4 по путям, вовлекающим микротрубочки и актиновые филаменты, которые могут подвергаться динамическому ремоделированию в ответ на связывание рецепторами инсулина. В отсутствие инсулина большинство переносчиков покидают мембрану, а быстрота реакции свидетельствует о том, что транспортеры могут располагаться вблизи мембраны или в непосредственном контакте с ней.

Cbl-b также связана с ИР. При ожирении воспалительные цитокины из активированных макрофагов поддерживают ИР в периферических органах (печень, скелетные мышцы) и жировой ткани. Убиквитин-лигаза Cbl-b, по-видимому, подавляет миграцию и активацию макрофагов [15].

#### Другие сигнальные механизмы

Как уже упоминалось, активация инсулином ТК-рецепторов приводит к высвобождению липидных мессенджеров и активации связанных с ними протеинкиназ. Образование инсулин-рецепторного комплекса активирует мембраносвязанные фосфолипазы группы C $\beta$ , продуцирующие так называемые сигнальные липиды [11, 16]. Фосфолипаза C, катализирующая распад минорного мембранного фосфолипида фосфатидилинозитолдифосфата на диацилглицерин (DAG) и инозитолтрифосфат (IP $_3$ ), была первой из открытых гормон-индуцируемых фосфолипаз. Оказалось, что оба эти соединения выполняют функцию мессенджеров, активируемых под воздействием инсулина. DAG является высокоспецифическим и очень активным стимулятором активности протеинкиназ типа C [11]. Данная категория протеинкиназ распространена во всех типах клеток и принимает участие в регуляции огромного числа клеточных функций, включая такие важные, как рост и дифференцировка, а нарушения в цепях переноса сиг-

нала могут быть причиной неконтролируемого роста и трансформации клеток. Изучение функции DAG позволило сформулировать новые представления о внутриклеточной регуляции инсулина, в частности ввести понятие длительности сигнала как важного параметра, определяющего характер конечного эффекта. В генерации DAG ключевая роль принадлежит фосфолипазе D, специфическим субстратом которой является фосфатидилхолин — фосфолипид, который преобладает в клеточных мембранах [17]. Последнее обстоятельство стало поводом для очередного кардинального переосмысления сути тех сигнальных процессов, которые могут индуцировать в клетке гормоны и ростовые факторы. Поскольку фосфолипидный слой мембран состоит, как правило, более чем на 50% из фосфатидилхолина, легко представить себе, какой колоссальный потенциал мощности и длительности генерируемого регуляторного сигнала обеспечивается тем, что данный элемент клеточной структуры при своем распаде способен к практически неисчерпаемому высвобождению высокоактивного медиатора. Столь же очевидно и то, какими могут быть для клетки последствия утраты контроля над сигнальным механизмом такой мощности.

Недавно было показано, что путь Hippo влияет на сигналинг инсулина, регулируя mTORC1 и mTORC2 [18]. Каскад Hippo определяет размер органов, контролируя число клеток за счет усиления апоптоза и подавления пролиферативных процессов [19]. Рецепторы, связанные с G-белком (GPCR), ингибируют компонент пути Hippo, Latsкиназу, что приводит к гипофосфорилированию Yes-связанного белка (YAP), который транслоцируется в ядро (**рис. 5**) [20, 21]. YAP стимулирует экспрессию микроРНК-29, мишенью которой является мРНК PTEN, и ингибирует ее трансляцию [20]. Снижение уровня PTEN, отрицательного регулятора сигнализации PI3K/Akt, увеличивает уровень PIP $_3$ , что приводит к дальнейшей активации mTORC1 и mTORC2 в сигналинге инсулина [22].

Показано участие в переносе сигналов инсулина и других каскадов, таких как JAK-1 и JAK-2, принимающих сигналы цитокинов и ростовых факторов. Функция этих ТК состоит в фосфорилировании особого цитоплаз-

матического латентного фактора транскрипции STAT (signal transducer and activator of transcription). В результате фосфорилирования STAT активируется путем образования димера, транслоцируется в ядро, где в таком виде связывается с регуляторными участками определенных генов, влияя таким образом на их экспрессию. Интересно, что это наиболее

короткий путь из всех известных вариантов трансдукции сигнала от клеточной мембраны в ядро с инициацией экспрессии генов [23]. Другими нерецепторными ТК, активируемыми инсулином, являются представители семейства Src-киназ и c-Abl [24].

Следует также отметить влияние инсулина на мессенджерный путь, связанный с cAMP

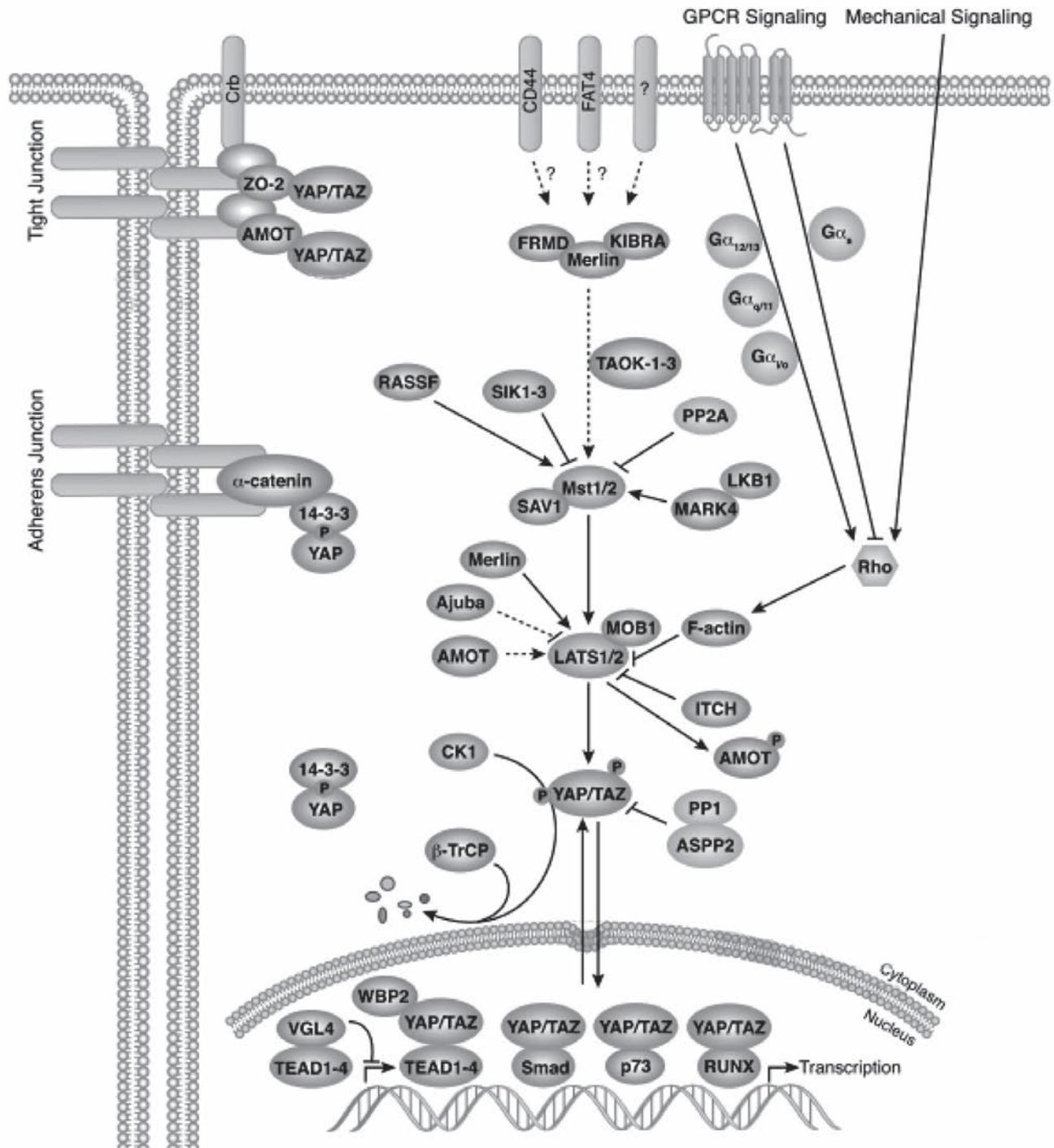


Рис. 5. Сигнальный путь Hippo (Cellsignal.com). Пояснения в тексте.

## Огляди

и РКА. Известно, что под действием инсулина вследствие активации Akt наблюдается быстрое перемещение из мембраны в клетку инсулинчувствительной фосфодиэстеразы, что может объяснить снижение уровня сАМР и активности сАМР-зависимой протеинкиназы А в присутствии гормона. В свою очередь, эта протеинкиназа фосфорилирует  $\beta$ -субъединицу рецептора инсулина не по остатку тирозина, а по серину и треонину, снижая тем самым сродство рецептора к инсулину. Ингибирование РКА приводит к угнетению липолиза в жировой ткани гормоночувствительной липазой (HSL) (рис. 1) [25].

Стало известно также, что перенос информации, инициируемый связыванием инсулина с клеткой, может осуществляться с участием рецепторов совершенно другого типа — GPCR — рецепторов, сопряженных с G-белком, семиспиральных рецепторов, серпентинов [26]. Молекулы рецепторов этой группы пространственно организованы так, что они пересекают плоскость липидного слоя клеточной мембраны семь раз, образуя при этом три петли. Помимо этого, все представители данного семейства используют единый тип адаптерного механизма, связывающего рецептор с эффекторными системами внутри клетки — это GTP-связывающие белки, состоящие из трех субъединиц —  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ . Активация рецептора вследствие связывания с агонистом вызывает конформационные изменения молекулы рецептора, дающие ему возможность распознавать одним из цитоплазматических сайтов, чаще всего третьей петлей, сопряженный с рецептором неактивный G-белок. Последний представляет собой комплекс объединенных  $\beta$ - и  $\gamma$ -субъединиц с  $\alpha$ -субъединицей, удерживаемой GDP. Связывание активированным рецептором G-гетеротримера ведет к его диссоциации на  $\beta\gamma$ -комплекс и  $\alpha$ -субъединицу, у которой происходит замена GDP на GTP и тем самым активация, обеспечивающая дальнейший перенос сигнала [26]. Подобным образом осуществляют свою адаптерную функцию и другие представители суперсемейства GTP-связывающих белков, например малые G-белки — Ras, Rho и другие.

Сложность внутриклеточных событий, которые могут происходить в клетке в результате активации одного лишь этого семейства ре-

цепторов, можно представить, вспомнив, что сейчас известно несколько сотен типов, подтипов и изоформ рецепторов с семью трансмембранными участками. Гетеротримеры G-белков, в свою очередь, могут быть сформированы из двух десятков известных изоформ  $\alpha$ -субъединицы, 5 изоформ  $\beta$ - и 10 изоформ  $\gamma$ -субъединицы. Аналогичная картина обнаруживается и при анализе компонентов любого последующего эффекторного механизма, скажем, сАМР-зависимого сигнального каскада — списки изоформ для аденилатциклазы, протеинкиназы А и т.д. также постепенно удлиняются.

С некоторыми семиспиральными рецепторами, а также с ТК-рецепторами и регулируемые ими сигнальными путями связан апоптоз. Внутриклеточные мессенджеры, опосредующие запуск апоптоза, изучены еще недостаточно. Один из них связан с активацией распада представителя фосфолипидных компонентов мембраны — сфингомиелина. Продукт этого распада, церамид, очевидно, является одним из медиаторов апоптоза и, в частности, активирует каскад ASK1/МКК4/SAPK(JNK), аналогичный каскаду протеинкиназ, активируемых митогенами [27]. Последнее звено этой цепи — стресс-активируемая протеинкиназа, индуцирующая апоптозные процессы. Интересно, что продукты последующего катаболизма церамида — сфингозинфосфат и сфингозин также, по всей видимости, являются вторичными посредниками. Важно отметить, что как сфингомиелиновый каскад в целом, так и каждый его компонент в отдельности вовлечены в регуляцию противоположных процессов: это, с одной стороны, процессы торможения клеточного цикла и/или апоптоз, а с другой — процессы пролиферации и клеточной дифференцировки. Инсулин способен тормозить процессы апоптоза путем опосредованного PI3K/Akt каскадом ингибирования белка Bad, киназы GSK-3 $\beta$  и других проапоптотических факторов.

#### Негативные регуляторы сигналинга инсулина

Передача сигналов инсулина и IGF-1 жестко контролируется, потому что неконтролируемая активность нижестоящих путей может привести к серьезным нарушениям метаболизма и канцерогенезу. Интенсивность и длительность сигнала играют важную роль в определе-

нии специфики реакции на их плейотропные эффекты. Таким образом, способность быстро отключать инсулиновый сигнал на разных уровнях является критической. С другой стороны, некоторые из этих тормозных механизмов могут быть изменены в патофизиологических условиях и участвовать в генезе ИР.

**Фосфатазы как отрицательные регуляторы действия инсулина.** Показано, что как цитоплазматические тирозинфосфатазы, такие как PTP1B, так и трансмембранные фосфатазы, такие как LAR, дефосфорилируют остатки тирозина на активированных IR и IGF-1R, а также белки IRS, уменьшая их активность. Хотя роль LAR в контроле сигналов инсулина в естественных условиях остается спорной, известно, что PTP1B существенно влияет на действие инсулина. Мыши с PTP1B<sup>-/-</sup> демонстрируют повышенные чувствительность к инсулину и фосфорилирование IR в мышцах и печени, а также устойчивы к ожирению, индуцированному высокожировой диетой (HFD) и связанной с ним ИР [1].

Серин/треонин фосфатаза 1 (PP1) участвует в регуляции нескольких лимитирующих скорость ферментов в метаболизме глюкозы и липидов, включая гликогенсинтазу, гормончувствительную липазу или ацетил-СоА-карбоксилазу. Фосфатаза 2A (PP2A), на которую приходится около 80% активности серин/треониновой фосфатазной активности в клетках, также регулирует активность многих протеинкиназ, вовлеченных в действие инсулина (рис. 1), включая Akt, PKC, S6K, ERK, циклинзависимых киназ и ИКК. Исследования показывают, что PP2A гиперактивирована при диабете [28].

Фосфатаза 2B (PP2B), также известная как кальциневрин, дефосфорилирует Akt [29]. Новыми членами семейства PP2C, участвующими в регуляции действия инсулина, являются фосфатазы PHLPP-1 и -2, содержащие богатые лейцином повторы с PH-доменом, которые дефосфорилируют Akt и PKC [30]. Сверхэкспрессия PHLPP1 в клетках влияет на активность Akt и GSK3, что приводит к снижению синтеза гликогена и транспорта глюкозы. Повышенные уровни PHLPP1 обнаружены в жировой ткани и скелетных мышцах пациентов с ожирением и диабетом и коррелируют со сниженным фосфорилированием Akt2 [31].

### **Липидные фосфатазы как отрицательные регуляторы действия инсулина.**

Липидные фосфатазы могут регулировать сигналинг инсулина путем модуляции уровня PIP3. PTEN дефосфорилирует PIP3, прерывая трансдукцию сигналов PI3K в клетке [32]. Специфические делеции PTEN у мышей повышают чувствительность к инсулину в мышцах, жировой ткани и печени, а мыши с гаплонедостаточностью PTEN всего тела демонстрируют повышенную толерантность к глюкозе и чувствительность к инсулину [33]. Интересно, что регуляторная субъединица p85 $\alpha$  PI3K может непосредственно связывать и усиливать активность PTEN, создавая уникальный интерфейс между генерацией и деградацией PIP3 [34].

SH2-содержащие inositol 5-фосфатазы (SHIP) 1 и 2 также дефосфорилируют PIP3. Экспрессия SHIP1 ограничена кроветворными клетками, тогда как SHIP2 экспрессируется повсеместно и играет роль в передаче сигналов инсулина (рис. 1) [35]. Дефицит SHIP2 у мышей приводит к гипогликемии, усиленной инсулинзависимой активации Akt и устойчивости к HFD-индуцированному ожирению, что указывает на ключевую роль SHIP2 в регуляции глюкозного и энергетического гомеостаза *in vivo*. И наоборот, мыши со сверхэкспрессией SHIP2 демонстрируют снижение индуцированной инсулином активации Akt в печени, жировой ткани и скелетных мышцах [36].

### **Другие отрицательные модуляторы (Grb, SOCS, Trb3, IP7).**

Grb10 и Grb14 представляют собой цитоплазматические белки-адаптеры, которые уменьшают активность IR и в меньшей степени IGF-1R, предотвращая доступ субстратов к активированным рецепторам. Делеция гена *Grb10* у мышей приводит к усилению роста и трансдукции сигналов инсулина, а также к повышению толерантности к глюкозе [37]. Сверхэкспрессия Grb10, с другой стороны, приводит к нарушению роста, непереносимости глюкозы и к ИР. mTORC1 фосфорилирует и стабилизирует Grb10, блокируя передачу сигналов инсулина [22]. mTORC2 участвует в деградации IRS-1. Показано, что mTORC2 отрицательно регулирует уровень IRS-1, регулируя стабильность и локализацию белка Fbw8 (F-box and WD repeat domain containing 8), субстрата, взаимодей-

## Огляди

ствующего с комплексом куллин-7-Е3-лигаза. mTORC2 фосфорилирует Fbw8, способствуя его транслокации в цитозоль при стимуляции инсулином. Fbw8 опосредует убиквитилирование и деградацию IRS-1, что необходимо для оборота и удаления неактивного IRS-1 в цитозоле [38].

Экспрессия Grb14 повышается в жировой ткани инсулинорезистентных моделей животных и пациентов с диабетом 2-го типа, а мыши с нокаутом Grb14 демонстрируют повышенные толерантность к глюкозе и чувствительность к инсулину, что согласуется с ингибирующей ролью Grb14 при передаче сигналов инсулина [1]. Grb10 и Grb14 действуют по сходным механизмам, так как удаление у мышей обоих белков не усиливает передачу сигналов инсулина [8].

Белки семейства супрессоров сигналинга цитокинов (SOCS) являются адаптерными белками, которые действуют как отрицательные регуляторы цитокинов и сигналов фактора роста. Кроме того, белки SOCS, в частности SOCS1 и SOCS3, отрицательно регулируют передачу сигналов инсулина и, таким образом, связывают сигналинг цитокинов с ИР. Их экспрессия повышается при ожирении, и они индуцируют ИР через ингибирование активности тирозинкиназы IR, конкуренцию за связывание белков IRS с рецептором или направляя белки IRS на деградацию [39].

Trb3 (Tribbles homolog 3) является членом семейства псевдокиназ, которые, как считается, функционируют как переходные белки. Экспрессия Trb3 индуцируется в печени при голодании и диабете и нарушает передачу сигналов инсулина путем связывания с Akt и блокирования его активации. Дефицит Trb3 у мышей повышает толерантность к глюкозе. В культивируемых клетках стимулируемая инсулином активация S6K снижается при сверхэкспрессии Trb3 и увеличивается при уменьшении уровня Trb3. Действие Trb3 в жировой ткани, по-видимому, не зависит от Akt. Таким образом, в то время как инсулин способствует липогенезу, Trb3 стимулирует липолиз путем запуска убиквитинизации и деградации ацетил-СоА-карбоксилазы. Трансгенные мыши, сверхэкспрессирующие Trb3 в жировой ткани, проявляют повышенную чувствительность к инсулину и защищены от ожире-

ния, вызванного диетой, из-за повышенного окисления жирных кислот [1].

Новым отрицательным регулятором сигналинга инсулина является инозитолфосфат IP7. Недавно показано, что инсулин и IGF-1 повышают уровни IP7, что, в свою очередь, ингибирует транслокацию Akt на плазматическую мембрану и последующую активацию, создавая механизм потенциальной обратной связи, который ослабляет передачу сигналов инсулина. Удаление фермента, который катализирует образование IP7 у мышей, повышает чувствительность к инсулину [40].

**Регулирование ингибирующим фосфорилированием серина и треонина.** Фосфорилирование тирозина имеет большое значение для активации IR/IGF-1R и IRS. Ингибирующее Ser/Thr фосфорилирование IR и особенно IRS-1 и -2 происходит в ответ на цитокины, жирные кислоты, гипергликемию, митохондриальную дисфункцию и стресс ER и на сам инсулин через активацию множественных киназ, преимущественно JNK, IKK, обычные и новые PKC, а также mTORC1/S6K и MAPK. Повышенное фосфорилирование серина IR, ассоциированное с пониженной активностью тирозинкиназы, наблюдалось в ИР-состояниях как у грызунов, так и у людей. Увеличение концентрации cAMP также индуцирует ингибирующее фосфорилирование серина IR в PKA-зависимом режиме [41, 42].

Хотя ингибирующее фосфорилирование серинов IRS-1 происходит по многим разным сайтам [41], наиболее изучена из них модификация по Ser-307. Фосфорилирование IRS-1 по Ser-307 усиливается у тучных и диабетических мышей. Таким образом, сам инсулин может стимулировать фосфорилирование IRS-1 по Ser-307 у людей [43], а мыши с мутацией в IRS-1 Ser307Ala развивают более выраженную ИР, чем контрольные мыши на HFD, указывая, что Ser-307 требуется для поддержания нормальной передачи сигналов инсулина [44].

Липиды через их метаболические продукты, такие как DAG, могут активировать классические ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) и новые члены семейства PKC ( $\delta$ ,  $\theta$ ,  $\epsilon$ ) и нарушать сигналинг инсулина, индуцируя множественное фосфорилирование белков IRS и IR по Thr-1336, Thr-1348 и Ser-1305/1306 [45]. Делеция любого члена

нового семейства РКС предотвращает развитие ИР в скелетных мышцах и печени путем снижения фосфорилирования IRS-1 по Ser-307 [46, 47]. Атипичная РКС-ξ также ингибирует передачу сигнала инсулина путем индукции фосфорилирования IRS-1 по серину и фосфорилирования Akt по Thr-34, тем самым препятствуя его рекрутированию в плазматическую мембрану [48].

Другим компонентом петли отрицательной обратной связи трансдукции сигнала инсулина является mTORC1. Активация mTOR и S6K происходит ниже по каскаду от сигналинга инсулина и также ингибирует его, усиливая фосфорилирование серина и уменьшая фосфорилирование остатков тирозина IRS. Так, IRS-1 гиперфосфорилируется и деградирует в фибробластах с нокаутом TSC-2, с конститутивной активацией S6K. mTORC1 также опосредует фосфорилирование и стабилизацию Grb10, что приводит к ингибированию передачи сигналов инсулина [49, 50].

#### Механизмы ИР

Главной особенностью диабета 2-го типа (СД2) является резистентность к инсулину — состояние, при котором клетки не могут нормально реагировать на инсулин. Это происходит прежде всего на уровне чувствительных к инсулину тканей, таких как печень, мышцы и жир, и может быть вызвано множественными механизмами.

**Генетические причины ИР.** Мутации в гене IR были идентифицированы в нескольких редких формах тяжелой ИР, включая лепречаунизм, синдром Рабсона - Менденхолла или синдром инсулинорезистентности типа А. Большинство из этих пациентов имеют нонсенс- или миссенс-мутации во внеклеточном лиганд-связывающем домене или внутриклеточном ТК-доме рецептора, что приводит к значительному снижению связывания с инсулином, изменению кинетики связывания или снижению активности ТК. Предполагаются также дефекты промотора, приводящие к уменьшению экспрессии мРНК рецептора. Мутации инсулиновых рецепторов не наблюдались у пациентов с обычным СД2 [1].

Полиморфизм G972R в гене IRS-1 наблюдается с более высокой частотой у пациентов с СД2 и приводит к торможению передачи сигналов инсулина, в основном путем снижения

активности PI3K [51]. Другие исследования продемонстрировали связь между однонуклеотидным полиморфизмом (SNP) в IRS-1 и СД2 [52, 53]. У пациентов с СД2 зарегистрирована миссенс-мутация AT608R в IRS-1 (достаточно редкая), которая приводит к торможению передачи сигналов инсулина [54].

Полиморфизм M326I в р85α-регуляторной субъединице PI3K идентифицирован у индийских женщин триба Pima и связан с уменьшением распространенности СД2. Однако эта мутация M326I оказывает незначительное влияние на передачу инсулина *in vitro*, снижая связывание р85α с IRS-1 и стимулируя деградацию р85α. Другой полиморфизм в р85α (SNP42) связан с гипергликемией натощак, но его молекулярный механизм до сих пор остается неуизученным [55].

Мутации PTEN при диабете пока не выявлены. Тем не менее в Японии идентифицированы пациенты с полиморфизмами в гене PTEN, один из которых был связан с СД2. Этот SNP вызывал более высокую скорость экспрессии PTEN и снижал индуцированную инсулином активацию Akt в клетках. Было также обнаружено, что индивидуумы с гаплонедостаточностью PTEN страдают ожирением и чувствительны к инсулину, что снижает риск СД2, но увеличивает риск развития рака [56].

У пациентов с диабетом найдена редкая миссенс-мутация (R274H) в Akt2, приводящая к потере активности киназы. Две другие миссенс-мутации (R208K и R467W) также идентифицированы у пациентов с диабетом, но эти мутантные формы киназы проявляют неизменную активность при стимуляции инсулином *in vitro* [57]. У пациентов с СД2 мутация приобретения функции (Q84R) в Grb3 была связана с ИР и снижением стимулированного инсулином фосфорилирования Akt [58]. Мутация в AS160 в сайте 363, образующая преждевременный стоп-кодон, с доминантно-негативным эффектом была идентифицирована у пациента с тяжелой постпрандиальной гиперинсулинемией, что приводило к снижению транспорта глюкозы [59].

**Липотоксичность.** Одной из особенностей метаболического синдрома является эктопическое накопление липидов, особенно жирных кислот (ФА), которые могут вызывать ИР через множественные механизмы. Ткане-

## Огляди

специфическое увеличение содержания липидов в неадипозных тканях дает прямые доказательства липотоксичности. Усиленный гидролиз циркулирующих триглицеридов из-за чрезмерной экспрессии липопротеиновой липазы в мышцах приводит к ИР скелетных мышц, тогда как возрастание транспорта липидов в сердце или печень приводит к липотоксической кардиомиопатии и неалкогольной жировой болезни печени соответственно [60]. Кроме того, многочисленные липидные интермедиаты также способствуют ИР.

При ожирении наблюдается повышение количества циркулирующих свободных жирных кислот (FFA), усиливающих фосфорилирование JNK, IKK, PKC и IRS-1 по Ser307 [61]. Пальмитат играет особую роль в повышении ИР, поскольку он индуцирует ER-стресс, образование цитокинов и активацию JNK. Кроме того, пальмитат активирует NF- $\kappa$ B, в то время как ингибирование этого пути снижает липид-индуцированную резистентность к инсулину. Интересно отметить, что патогенный эффект пальмитата на ИР скелетных мышц можно отменить путем коинфузии с олеатом, переориентировав его превращение в фосфолипиды и DAG на триглицериды [62]. Это свидетельствует, что FFA индуцирует ИР через множественные механизмы, а комбинации FA могут влиять на передачу сигналов инсулина, и подчеркивает значимость взаимодействия липидов. Было также показано, что DAG индуцирует ИР. Увеличение количества DAG в мышечных клетках приводит к ИР, активируя PKC- $\theta$  и индуцируя фосфорилирование IRS-1 по Ser-307. И наоборот, снижение уровня DAG в скелетных мышцах и печени защищало мышей от индуцированной HFD инсулинорезистентности [63].

У пациентов с ожирением и диабетом наблюдалась повышенная концентрация сфинголипида — церамида, которая была связана с тяжелой ИР. Показано, что церамид индуцирует ИР через активацию PKC и JNK [61], а ингибирование синтеза церамида ослабляет ИР. Церамиды также ингибируют активацию Akt, способствуя взаимодействию PP2A с киназой и фосфорилированию Akt по Thr-34 с помощью PKC- $\xi$ , что приводит к снижению ее связывания с PIP<sub>3</sub> [64].

Кроме воздействия на киназы, изменение

состава липидов мембран влияет на сигналинг инсулина. Увеличение отношения насыщенных к ненасыщенным FA наблюдается у пациентов с СД2 и, как полагают, снижает текучесть мембран и чувствительность к инсулину. Увеличение отношения в ER фосфатидилхолина к фосфатидилэтаноламинам приводит к ER-стрессу и связано с ИР [65].

Недавние исследования показали, что в перемещении IR и регуляции метаболизма глюкозы участвует LRP1 (LDL receptor-related protein 1) — потенциальное связующее звено между метаболизмом липопротеинов и глюкозы при диабете. Инактивация LRP1 в печени нарушает передачу сигналов инсулина и подавляет транслокацию GLUT2 на плазматическую мембрану. При этом нарушалось фосфорилирование IR, Akt и GSK3 $\beta$  и наблюдалось неполное подавление генов глюконеогенеза. Интересно, что h-LRP1-/- гепатоциты имели значительно более низкие уровни IR-экспрессии на поверхности клетки, однако степень интернализации IR, индуцированной инсулином, была сходной между h-LRP1-/- и h-LRP1+/+ гепатоцитами. Эти результаты свидетельствуют о том, что экспрессия IR на поверхности клетки зависит от LRP1 [66]. Обработка инсулином первичных гепатоцитов, выделенных из мышей-wt, стимулировала транслокацию LRP1 на клеточную поверхность. Интересно, что транслокация LRP1 ингибировалась пальмитатом. Напротив, ненасыщенные жирные кислоты — олеиновая и линолевая не ингибируют транслокацию LRP1, стимулированную инсулином. Механизм, посредством которого LRP1 транслоцируется на клеточную поверхность после воздействия инсулина, не был до конца ясен, пока LRP1 не был идентифицирован как один из наиболее распространенных белков в GLUT4-содержащих везикул [67].

**Воспаление.** Ожирение характеризуется развитием состояния хронического низкоуровневого воспаления, которое считается ключевым фактором, способствующим развитию связанной с ожирением ИР [68]. Разрастание жировой ткани происходит в ответ на калорийную перегрузку и ассоциируется с усилением инфильтрации иммунных клеток и последующей провоспалительной реакцией [69]. В этом сценарии задействована

но два особенно важных типа клеток: адипоциты и макрофаги, причем оба они способны секретировать провоспалительные цитокины и индуцировать ИР. Повышенная секреция хемокина MCP-1 адипоцитами стимулирует накопление макрофагов в жировой ткани и вызывает ИР. Удаление MCP-1 или его рецептора CCR2 улучшает чувствительность к инсулину и ослабляет воспалительный процесс у мышей [70]. Повышенная секреция цитокинов, таких как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  или IL-6, как иммунными клетками, так и адипоцитами наблюдается при ожирении и индуцирует ИР через множественные механизмы, включая активацию серин-треониновых киназ [42, 71], уменьшения содержания IRS-1, GLUT4 и экспрессии PPAR $\gamma$  [72] или активации SOCS3 в адипоцитах [73]. Другим движущим фактором в связанном с ожирением воспалении является активация Toll-подобных рецепторов (TLR), особенно TLR-2 и TLR-4. TLR принадлежат к врожденной иммунной системе, активируются патоген-ассоциированными молекулярными структурами, такими как LPS, и индуцируют воспаление путем активации пути NF- $\kappa$ B. TLR экспрессируются повсеместно, и содержание TLR-4 повышено в скелетных мышцах и жировой ткани при ожирении. Интересно, что насыщенные FA также могут активировать этот путь, что указывает на потенциальную роль этих рецепторов в связанном с ожирением воспалением. Мыши с пониженным содержанием сигнальных белков TLR-2- или TLR-4- защищены от ожирения и связанной с ожирением ИР [74, 75].

**Гипергликемия.** Сама глюкоза в супрафизиологической концентрации способна изменять чувствительность к инсулину в мышцах и жировой ткани, а также снижает секрецию инсулина из  $\beta$ -клеток. Гипергликемия, вызванная снижением транспорта глюкозы в скелетные мышцы, нарушает действие инсулина в печени и жировой ткани и индуцирует ИР через пути, связанные с окислительным стрессом. AGE ингибируют передачу сигналов инсулина путем увеличения фосфорилирование IRS-1 по Ser-307 и формирования метилглиоксаль-IRS-1 аддуктов [76].

Гипергликемия усиливает поток через гексозаминовые и полиольные пути, активирующие JNK. Это способствует ИР в жировой ткани,

скелетных мышцах, печени и поджелудочной железе частично через O-GlcNAцилирование IRS. Кроме того, гипергликемия также приводит к O-GlcNAцилированию IR, что нарушает димеризацию рецептора и активирует фактор транскрипции FOXO1, усиливая экспрессию генов глюконеогенеза [77]. Гипергликемия также активирует PKC, индуцируя синтез de novo DAG, и вызывает ИР посредством формирования комплекса RAGE/IRS-1/Src, активирующим PKC- $\alpha$  и усиливающим фосфорилирование IRS-1 по Ser-307 [78].

**Митохондриальная дисфункция и образование ROS.** Хотя низкие уровни ROS могут усиливать действие инсулина, высокая концентрация ROS вызывает окислительный стресс. ROS – побочный продукт электронной транспортной цепи и основное следствие митохондриальной дисфункции [79]. Повышенные уровни ROS наблюдаются при ожирении и диабете и могут быть вызваны увеличением потока метаболитов в митохондриях, изменениями митохондриальных белков и сниженной экспрессией антиоксидантных ферментов. Окислительный стресс приводит к активации стресс-киназ, которые индуцируют ИР путем фосфорилирования сериновых остатков IRS [80]. Помимо ROS-опосредованной ИР, изменение митохондриальной динамики в виде усиленного деления митохондрий приводит к ИР, и она может быть ослаблена путем ингибирования деления, что снижает активность киназы p38MAPK и стимулирует активацию IRS-1 и Akt [81]. Нарушение митохондриального окисления FA в печени также приводит к повышению содержания DAG, который активирует PKC- $\epsilon$  и снижает фосфорилирование IRS-2 и активность PI3K [82].

**ER-стресс.** Реакция стресса ER – UPR (unfolded protein response) является адаптивным процессом для обеспечения правильной сборки, созревания и контроля качества белков в ER. Три основных фактора UPR (PERK, IRE1a и ATF6) активируются при ожирении, чтобы ослабить реакцию на несвернутые белки [83]. Мыши с ожирением демонстрировали повышенную активность PERK и IRE1a в жировой ткани и печени, которая способствовала активации JNK, IKK и развитию ИР путем фосфорилирования IRS-1 по Ser-307 [42]. Фактор транскрипции XBP-1 активируется путем сплайсинга при ER-стрессе и стимулирует экспрессию генов молекулярных

## Огляди

шаперонов для восстановления гомеостаза ER. Сверхэкспрессия расщепленного XBP-1 снижает ER-стресс, активацию JNK и увеличивает передачу сигналов инсулина, уменьшая фосфорилирование IRS-1 [84].

**Заключение**

Инсулин и ИФР-1, действующие через специфические RTK, трансдуцируют сигналы через два основных сигнальных пути — PI3K-PDK-1-Akt и Grb2-SOS-Ras-MAPK, которые контролируют пролиферацию, дифференцировку и выживание на клеточном уровне, а также рост и метаболизм в организме. Эти сигнальные пути содержат несколько критических узлов — точек регулирования, дивергенции сигнала и перекрестного регулирования с другими сигнальными каскадами. Сложность этой сигнальной системы обеспечивает разнообразие биологических ответов инсулина и IGF-1. Многие стадии этих каскадов отрицательно регулируются специфическими фосфатазами и ингибирующими белками.

Упомянутыми путями не ограничивается перечень сигнальных механизмов, которые активируются инсулином. Важно отметить, что центральным звеном любого из этих механизмов является активация тех или иных протеинкиназ, которые, в свою очередь, изменяют функции других клеточных белков путем их фосфорилирования. Известно огромное количество субстратов этих протеинкиназ. Это ферменты, элементы цитоскелета, рецепторы, ионные каналы, другие мембранные белки. Особое значение среди субстратов протеинкиназ имеют факторы транскрипции — белки, избирательно регулирующие экспрессию генов. Факторы транскрипции иногда называют третичными мессенджерами. Это выражение подразумевает, что факторы транскрипции принадлежат уже как бы к иной, особой категории мессенджерных механизмов — переносу сигнала в клеточном ядре.

Мы рассмотрели лишь несколько основных сигнальных путей, связанных с опосредованием действия инсулина на клетки-мишени. Безусловно, они не исчерпывают всех путей воздействия этого гормона на клетку. Нельзя поручиться, что в скором времени не будут открыты и другие типы проведения и усиления гормональных сигналов. Широкий спектр метаболических эффектов инсулина в организме свидетельствует, что гормон необходим для

осуществления функционирования всех тканей, органов и физиологических систем, реализации эмоциональных и поведенческих реакций, поддержания гомеостаза, осуществления механизмов приспособления и защиты организма от неблагоприятных факторов среды [85].

Одной из важных проблем остается расшифровка сложного патогенеза ИР. Причины ИР многочисленны, а механизмы многофакторны. В некоторых случаях патология связана с генетическими изменениями, но чаще ИР вызывается клеточными нарушениями, такими как липотоксичность, воспаление, глюкотоксичность, митохондриальная дисфункция и стресс ER, которые приводят к дерегулированию генов и модификации белков, нарушающих действие инсулина и IGF-1. Идентификация новых молекул, влияющих на сигналинг инсулина, и поиск новых уровней контроля, а также лучшее понимание причин и механизмов, ведущих к ИР, имеют большое значение для более эффективного лечения диабета и связанных с ним заболеваний.

Изучению механизма действия гормонов, особенно механизмов действия инсулина на клетки-мишени, посвящалась значительная доля усилий специалистов в области экспериментальной эндокринологии. В прошедшие два-три десятилетия события именно в данной области привели к пониманию, что эндокринология — это не только раздел клинической или экспериментальной медицины, но и общебиологическая теоретическая дисциплина. В настоящее время можно отметить новый этап смены взглядов в данной области науки. Во-первых, установлено, что некоторые «классические» гормоны, возможно, значительная их часть, вырабатываются во многих местах организма, а не только в специализированных железах, а во-вторых, выяснилось, что ряд биорегуляторов неотличимы по механизму действия на клетку от гормонов и даже находятся в эволюционном родстве с ними. Речь идет в первую очередь о ростовых факторах и цитокинах, также осуществляющих свое действие через специфические клеточные рецепторы. Базисная парадигма клеточной эндокринологии в связи с этим существенно расширилась. Еще большую общность процессов, изучаемых молекулярной эндокринологией, выявил существенный прогресс в понимании внутриклеточных механизмов действия различных биорегуляторов. Общность эта основыва-

ється на том, що процес переноса регуляторної інформації с рецепторів на внутриклеточні процеси не залежить від того, йде ли речь о рецепторі якого-либo гормона или иного биорегулятора. Все они використовують общие сигнальні шляхи. Любою з цих регуляторів запускає один или несколько из множества невероятно сложных внутриклеточных механізмів роботи и переноса регуляторної інформації. В настоящее время в класифікації нуждаются уже не только регуляторы, но и в еще большей степени пути и механизмы опосредования переносимых ими сигналов.

### Список использованной литературы

- Boucher J, Kleinriders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014;6:a009191.
- Gureasko J, Galush WJ, Boykevich S, Sondermann H, Barsagi D, Groves JT, et al. Membrane-dependent signal integration by the Ras activator Son of sevenless. *Nat Struct Mol Biol.* 2008 May;15(5):452-61.
- Avruch J. MAP kinase pathways: the first twenty years. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1773(8):1150-60.
- Cohen P. The twentieth century struggle to decipher insulin signaling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006 Nov;7(11):867-73.
- Gehart H, Kumpf S, Ittner A, Ricci R. MAPK signalling in cellular metabolism: stress or wellness? *EMBO Rep.* 2010;11(11):834-40.
- Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006 Feb;7(2):85-96.
- Ramos FJ, Langlais PR, Hu D, Dong LQ, Liu F. Grb10 mediates insulin-stimulated degradation of the insulin receptor: a mechanism of negative regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290:E1262-6.
- Holt LJ, Lyons RJ, Ryan AS, Beale SM, Ward A, Cooney GJ, Daly RJ. Dual ablation of Grb10 and Grb14 in mice reveals their combined role in regulation of insulin signaling and glucose homeostasis. *Mol Endocrinol.* 2009; 23(9):1406-14.
- Smith FM, Holt LJ, Garfield AS, Charalambous M, Koumanov F, Perry M, et al. Mice with a disruption of the imprinted Grb10 gene exhibit altered body composition, glucose homeostasis, and insulin signaling during postnatal life. *Mol Cell Biol.* 2007 Aug;27(16):5871-86.
- Gallagher EJ, LeRoith D. Minireview: IGF, Insulin, and cancer. *Endocrinology.* 2011;152(7):2546-51.
- Farese RV, Sajan MP. Metabolic functions of atypical protein kinase C: «good» and «bad» as defined by nutritional status // *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010;298:E385-E394.
- Farese RV, Sajan MP, Yang H, Li P, Mastorides S, Gower WR Jr, et al. Muscle-specific knockout of PKC- $\delta$  impairs glucose transport and induces metabolic and diabetic syndromes. *J Clin Invest.* 2007;117:2289-301.
- Siddle K. Signalling by insulin and IGF receptors: supporting acts and new players. *J Mol Endocrinol.* 2011;47(1):1-10.
- Chang L, Chiang S, Saultier AR. Insulin signaling and the regulation of glucose transport. *Mol Medicine.* 2004;10(7-12):65-71.
- Abe T, Hirasaka K, Nikawa T. Involvement of Cbl-b-mediated macrophage inactivation in insulin resistance. *World J Diabetes.* 2017;8(3):97-103.
- Wong RH, Sul HS. Insulin signaling in fatty acid and fat synthesis: a transcriptional perspective. *Curr Opin Pharmacol.* 2010;10(6):684-91.
- Farese RV. Insulin-sensitive phospholipid signaling systems and glucose transport. Update II. *Exp Biol Med.* 2001;226(4):283-95.
- Shimobayashi M, Hall MN. Making new contacts: The mTOR network in metabolism and signalling crosstalk. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014 Mar;15(3):155-62.
- Zhao B, Tumaneng K, Guan KL. The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell self-renewal. *Nat Cell Biol.* 2011 Aug 1;13(8):877-83.
- Tumaneng K, Schlegelmilch K, Russell RC, Yimlamai D, Basnet H, Mahadevan N, et al. YAP mediates crosstalk between the hippo and PI(3)K-TOR pathways by suppressing PTEN via miR-29. *Nat Cell Biol.* 2012 Dec;14(12):1322-9.
- Yu FX, Zhao B, Panupinthu N, Jewell JL, Lian I, Wang LH, et al. Regulation of the Hippo-YAP pathway by G-protein-coupled receptor signaling. *Cell.* 2012 Aug 17;150(4):780-91.
- Yoon MS. The role of mammalian target of rapamycin (mTOR) in insulin signaling. *Nutrients.* 2017;9(11): E1176.
- Richard AJ, Stephens JM. Emerging roles of JAK-STAT signaling pathways in adipocytes. *Trends Endocrinol Metab.* 2011;22(8):325-32.
- Sirvent A, Benistant C, Roche S. Cytoplasmic signalling by the c-Abl tyrosine kinase in normal and cancer cells. *Biol Cell.* 2008;100:617-31.
- Тронько НД, Ковзун ЕИ, Пушкарев ВМ. Рецепція и внутриклеточні механізми дії інсуліну. *Журнал НАМН України.* 2012;4:430-7. (Tron'ko ND, Kovzun YeI, Pushkarev VM. The reception and intracellular mechanisms of action of insulin. *Zhurnal NAMN Ukrayini.* 2012; 4: 430-7).
- Gavi S, Shumay E, Wang H, Malbon C. G-protein-coupled receptors and tyrosine kinases: crossroads in cell signaling and regulation. *Trends Endocrinol Metab.* 2006;17(2):46-52.
- Bikman BT, Summers SA. Ceramides as modulators of cellular and whole-body metabolism. *J Clin Invest.* 2011;121(11):4222-30.
- Kowluru A, Matti A. Hyperactivation of protein phosphatase 2A in models of glucolipotoxicity and diabetes: Potential mechanisms and functional consequences. *Biochem Pharmacol.* 2012;84:591-7.
- Ni YG, Wang N, Cao DJ, Sachan N, Morris DJ, Gerard RD, et al. FoxO transcription factors activate Akt and attenuate insulin signaling in heart by inhibiting protein phosphatases. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007 Dec 18;104(51):20517-22.
- Brogard J, Newton AC. PHLiPPing the switch on Akt and protein kinase C signaling. *Trends Endocrinol Metab.* 2008;19:223-30.
- Andreozzi F, Procopio C, Greco A, Mannino GC, Miele C, Raciti GA, et al. Increased levels of the Akt-specific phosphatase PH domain leucine-rich repeat protein phosphatase (PHLPP)-1 in obese participants are associated with insulin resistance. *Diabetologia.* 2011 Jul;54(7):1879-87.
- Carracedo A, Pandolfi PP. The PTEN-PI3K pathway: Of feedbacks and cross-talks. *Oncogene.* 2008;27:5527-41.
- Wong JT, Kim PT, Peacock JW, Yau TY, Mui AL, Chung SW, et al. Pten (phosphatase and tensin homologue gene) haploinsufficiency promotes insulin hypersensitivity. *Diabetologia.* 2007 Feb; 50(2): 395-403.
- Chaggar RB, Links PH, Pastor MC, Furber LA, Hawrysh AD, Chamberlain MD, et al. Direct positive regulation of PTEN by the p85 subunit of phosphatidylinositol 3-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010 Mar 23;107(12):5471-6.
- Suwa A, Kurama T, Shimokawa T. SHIP2 and its involvement in various diseases. *Expert Opin Ther Targets.* 2010 Jul;14(7):727-37.
- Kagawa S, Soeda Y, Ishihara H, Oya T, Sasahara M, Yaguchi S, et al. Impact of transgenic overexpression of SH2-containing inositol 5'-phosphatase 2 on glucose metabolism and insulin signaling in mice. *Endocrinology.* 2008 Feb; 149(2):642-50.
- Wang L, Balas B, Christ-Roberts CY, Kim RY, Ramos FJ, Kikani CK, et al. Peripheral disruption of the Grb10 gene enhances insulin signaling and sensitivity in vivo. *Mol Cell Biol.* 2007 Sep;27(18):6497-505.
- Kim SJ, DeStefano MA, Oh WJ, Wu CC, Vega-Cotto NM, Finlan M, et al. mTOR complex 2 regulates proper turnover of insulin receptor substrate-1 via the ubiquitin ligase subunit Fbw8. *Mol Cell.* 2012 Dec 28;48(6):875-87.
- Sachithanandan N, Fam BC, Fynch S, Dzamko N, Watt MJ, Wormald S, et al. Liver-specific suppressor of cytokine signaling-3 deletion in mice enhances hepatic insulin sensitivity and lipogenesis resulting in fatty liver and obesity. *Hepatology.* 2010;52(5):1632-42.
- Chakraborty A, Koldobskiy MA, Bello NT, Maxwell M, Potter JJ, Juluri KR, et al. Inositol pyrophosphates inhibit Akt signaling, thereby regulating insulin sensitivity and weight gain. *Cell.* 2010 Dec 10;143(6):897-910.
- Boura-Halfon S, Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin

## Огляди

- action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009;296: E581-E91.
42. Zhang J, Gao Z, Yin J et al. S6K directly phosphorylates IRS-1 on Ser-270 to promote insulin resistance in response to TNF- $\alpha$  signaling through IKK2. *J Biol Chem.* 2008;283:35375-35382.
  43. Yi Z, Langlais P, De Filippis EA, Luo M, Flynn CR, Schroeder S, et al. Global assessment of regulation of phosphorylation of insulin receptor substrate-1 by insulin in vivo in human muscle. *Diabetes.* 2007;56(6):1508-16.
  44. Copps KD, Hancer NJ, Opore-Ado L, Qiu W, Walsh C, White MF. Irs1 serine 307 promotes insulin sensitivity in mice. *Cell Metab.* 2010 Jan;11(1):84-92.
  45. Turban S, Hajdich E. Protein kinase C isoforms: Mediators of reactive lipid metabolites in the development of insulin resistance. *Growth Regul.* 2011;585:269-74.
  46. Mack E, Ziv E, Reuveni H, Kalman R, Niv MY, Jorns A, et al. Prevention of insulin resistance and b-cell loss by abrogating PKC $\epsilon$ -induced serine phosphorylation of muscle IRS-1 in Psammomys obesus. *Diabetes Metab Res Rev.* 2008 Oct;24(7):577-84.
  47. Bezy O, Tran TT, Pihlajamaki J, Suzuki R, Emanuelli B, Winnay J, et al. PKC $\delta$  regulates hepatic insulin sensitivity and hepatosteatosis in mice and humans. *J Clin Invest.* 2011 Jun 1;121(6):2504-17.
  48. Powell DJ, Turban S, Gray A, Hajdich E, Hundal HS. Intracellular ceramide synthesis and protein kinase C $\xi$  activation play an essential role in palmitate-induced insulin resistance in rat L6 skeletal muscle cells. *Biochem J.* 2004 Sep 1;382(Pt 2):619-29.
  49. Hsu PP, Kang SA, Rameseder J, Zhang Y, Ottina KA, Lim D, et al. The mTOR-regulated phosphoproteome reveals a mechanism of mTORC1-mediated inhibition of growth factor signaling. *Science.* 2011 Jun;332(6035):1317-22.
  50. Yu Y, Yoon SO, Pouligiannis G, Yang Q, Ma XM, Villén J, et al. Phosphoproteomic analysis identifies Grb10 as an mTORC1 substrate that negatively regulates insulin signaling. *Science.* 2011 Jun 10;332(6035):1322-6.
  51. Hribal ML, Tornei F, Pujol A, Menghini R, Barcaroli D, Lauro D, et al. Transgenic mice overexpressing human G972R IRS-1 show impaired insulin action and insulin secretion. *J Cell Mol Med.* 2008 Oct;12(5b):2096-2106.
  52. Burguete-Garcia AI, Cruz-Lopez M, Madrid-Marina V, Lopez-Ridaura R, Hernandez-Avila M, Cortina B, et al. Association of Gly972Arg polymorphism of IRS1 gene with type 2 diabetes mellitus in lean participants of a national health survey in Mexico: a candidate gene study. *Metabolism* 2010;59:38-45.
  53. Martinez-Gomez LE, Cruz M, Martinez-Nava GA. A replication study of the IRS1, CAPN10, TCF7L2, and PPARG gene polymorphisms associated with type 2 diabetes in two different populations of Mexico. *Ann Hum Genet.* 2011;75:612-20.
  54. Esposito DL, Li Y, Vanni C, Mammarella S, Veschi S, Della Loggia F, et al. A novel T608R missense mutation in insulin receptor substrate-1 identified in a subject with type 2 diabetes impairs metabolic insulin signaling. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 1468-75.
  55. Barroso I, Luan J, Middelberg RP, Harding AH, Franks PW, Jakes RW, et al. Candidate gene association study in type 2 diabetes indicates a role for genes involved in b-cell function as well as insulin action. *PLoS Biol.* 2003 Oct;1(1): E20.
  56. Pal A, Barber TM, Van de Bunt M, Rudge SA, Zhang Q, Lachlan KL, et al. PTEN mutations as a cause of constitutive insulin sensitivity and obesity. *N Engl J Med.* 2012 Sep 13;367(11):1002-11.
  57. Tan K, Kimber WA, Luan J, Soos MA, Semple RK, Wareham NJ, et al. Analysis of genetic variation in Akt2/PKB- $\beta$  in severe insulin resistance, lipodystrophy, type 2 diabetes, and related metabolic phenotypes. *Diabetes.* 2007;56(3):714-9.
  58. Prudente S, Scarpelli D, Chandalia M, Zhang YY, Morini E, Del Guerra S, et al. The TRIB3 Q84R polymorphism and risk of early-onset type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jan;94(1):190-6.
  59. Dash S, Sano H, Rochford JJ, Semple RK, Yeo G, Hyden CS, et al. A truncation mutation in TBC1D4 in a family with acanthosis nigricans and postprandial hyperinsulinemia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009 Jun 9;106(23):9350-5.
  60. Koonen DP, Jacobs RL, Febbraio M, Young ME, Soltys CL, Ong H, et al. Increased hepatic CD36 expression contributes to dyslipidemia associated with diet-induced obesity. *Diabetes.* 2007 Dec;56(12):2863-71.
  61. Schenk S, Saberi M, Olefsky JM. Insulin sensitivity: Modulation by nutrients and inflammation. *J Clin Invest.* 2008;118:2992-3002.
  62. Peng G, Li L, Liu Y, Pu J, Zhang S, Yu J, et al. Oleate blocks palmitate-induced abnormal lipid distribution, endoplasmic reticulum expansion and stress, and insulin resistance in skeletal muscle. *Endocrinology.* 2011 Jun;152(6):2206-18.
  63. Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. Lipid-induced insulin resistance: Unravelling the mechanism. *Lancet.* 2010;375:2267-77.
  64. Blouin CM, Prado C, Takane KK, Lasnier F, Garcia-Ocana A, Ferré P, et al. Plasma membrane subdomain compartmentalization contributes to distinct mechanisms of ceramide action on insulin signaling. *Diabetes.* 2010 Mar;59(3):600-10.
  65. Fu S, Yang L, Li P, Hofmann O, Dicker L, Hide W, et al. Aberrant lipid metabolism disrupts calcium homeostasis causing liver endoplasmic reticulum stress in obesity. *Nature.* 2011 May 26;473(7348):528-31.
  66. Au DT, Strickland DK, Muratoglu SC. The LDL receptor-related protein 1: at the crossroads of lipoprotein metabolism and insulin signaling. *J Diabetes Res.* 2017;2017:8356537.
  67. Jedrychowski MP, Gartner CA, Gygi SP, Zhou L, Herz J, Kandror KV, et al. Proteomic analysis of GLUT4 storage vesicles reveals LRP1 to be an important vesicle component and target of insulin signaling. *J Biol Chem.* 2010 Jan 1;285(1):104-14.
  68. Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med.* 2012 Mar 6;18(3):363-74.
  69. Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest.* 2011;121:2094-101.
  70. Weisberg SP, Hunter D, Huber R, Lemieux J, Slaymaker S, Vaddi K, et al. CCR2 modulates inflammatory and metabolic effects of high-fat feeding. *J Clin Invest.* 2006 Jan;116(1):115-24.
  71. Fan Y, Yu Y, Shi Y, Sun W, Xie M, Ge N, et al. Lysine 63-linked polyubiquitination of TAK1 at lysine 158 is required for tumor necrosis factor  $\alpha$ - and interleukin-1 $\beta$ -induced IKK/NF- $\kappa$ B and JNK/AP-1 activation. *J Biol Chem.* 2010 Feb 19;285(8): 5347-60.
  72. Jager J, Grémeaux T, Cormont M, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF. Interleukin-1 $\beta$ -induced insulin resistance in adipocytes through down-regulation of insulin receptor substrate-1 expression. *Endocrinology.* 2007 Jan;148(1):241-51.
  73. Stepan CM, Wang J, Whiteman EL, Birnbaum MJ, Lazar MA. Activation of SOCS-3 by resistin. *Mol Cell Biol.* 2005 Feb;25(4):1569-75.
  74. Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier JS. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006 Nov;116(11):3015-25.
  75. Himes RW, Smith CW. Tlr2 is critical for diet-induced metabolic syndrome in a murine model. *FASEB J.* 2010;24:731-9.
  76. Riboulet-Chavey A, Pierron A, Durand I, Murdaca J, Giudicelli J, Van Obberghen E. Methylglyoxal impairs the insulin signaling pathways independently of the formation of intracellular reactive oxygen species. *Diabetes.* 2006 May;55(5):1289-99.
  77. Housley MP, Rodgers JT, Udeshi ND, Kelly TJ, Shabanowitz J, Hunt DF, et al. O-GlcNAc regulates FoxO activation in response to glucose. *J Biol Chem.* 2008 Jun 13;283(24):16283-92.
  78. Cassese A, Esposito I, Fiory F, Barbagallo APM, Paturzo F, Mirra P, et al. In skeletal muscle advanced glycation end products (AGEs) inhibit insulin action and induce the formation of multimolecular complexes including the receptor for AGEs. *J Biol Chem.* 2008 Dec 26;283(52):36088-99.
  79. Chang YC, Chuang LM. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: From molecular mechanism to clinical implication. *Am J Transl Res.* 2010;2:316-31.
  80. Dokken BB, Saengsirisuwan V, Kim JS, Teachey MK, Henriksen EJ. Oxidative stress-induced insulin resistance in rat skeletal muscle: Role of glycogen synthase kinase-3. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008 Mar;294(3):E615-21.
  81. Jheng HF, Tsai PJ, Guo SM, Kuo LH, Chang CS, Su IJ, et al. Mitochondrial fission contributes to mitochondrial dysfunction and insulin resistance in skeletal muscle. *Mol Cell Biol.* 2012 Jan;32(2):309-19.
  82. Zhang D, Liu ZX, Choi CS, Tian L, Kibbey R, Dong J, et al. Mitochondrial dysfunction due to long-chain Acyl-CoA dehydrogenase deficiency causes hepatic steatosis and hepatic insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007 Oct 23;104(43):17075-80.
  83. Hotamisligil GS. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory

basis of metabolic disease. *Cell*. 2010;140:900-17.

84. Ozcan U, Cao Q, Yilmaz E, Lee AH, Iwakoshi NN, Ozdelen E, et al. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*. 2004 Oct 15;306(5695):457-61.
85. Rask-Madsen C, Kahn CR. Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32(9):2052-9.

(Надійшла до редакції 23.11.2018 р.)

## Рецепція та внутрішньоклітинні механізми дії інсуліну (частина 2)

**М.Д. Тронько, О.І. Ковзун, В.В. Пушкарьов,  
Л.К. Соколова, В.М. Пушкарєв**

ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України»

**Резюме.** В огляді аналізуються механізми, що беруть участь у рецепції та проведенні сигналів інсуліну в клітинах-мішенях. Описано структуру рецептора, механізм його активації та передачі сигналу гормону нижчим ланкам інсулінового каскаду. Охарактеризовано основні сигнальні шляхи, що беруть участь у трансдукції, посиленні та пригнічнні сигналу інсуліну.

**Ключові слова:** рецептори інсуліну, субстрати рецептора інсуліну, сигнальні шляхи інсуліну, інсулінорезистентність.

## Reception and intracellular mechanisms of insulin action (part 2)

**N.D. Tronko, E.I. Kovzun, V.V. Pushkarev, L.K. Sokolova,  
V.M. Pushkarev**

SI «V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism of the National Academy of Sciences of Ukraine»

**Abstract.** The review analyzes the mechanisms involved in the reception and transduction of insulin signals in target cells. The structure of the receptor, the mechanism of its activation and the transduction of the hormone signal to the downstream cascades are described. The main signaling pathways involved in transduction, amplification and suppression of insulin signal are characterized. As illustrations, the most commonly used posters of Cell-signal.com are used as the most complete and well-designed ones.

**Keywords:** insulin receptors, insulin receptor substrates, insulin signaling pathways, insulin resistance.