

Молекулярні механізми розвитку клітинної інсулінорезистентності

Н. Г. Ракша, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Вул. Володимирська, 64, Київ, Україна, 01601

nkudina@ukr.net

Розглянуто деякі патогенетичні механізми, які обумовлюють формування стану клітинної інсулінорезистентності на рецепторному та пострецепторному рівнях. Особливу увагу приділено аналізу факторів, що впливають на функціонування компонентів фосфатидилінозитольної ланки інсулінового сигнального каскаду.

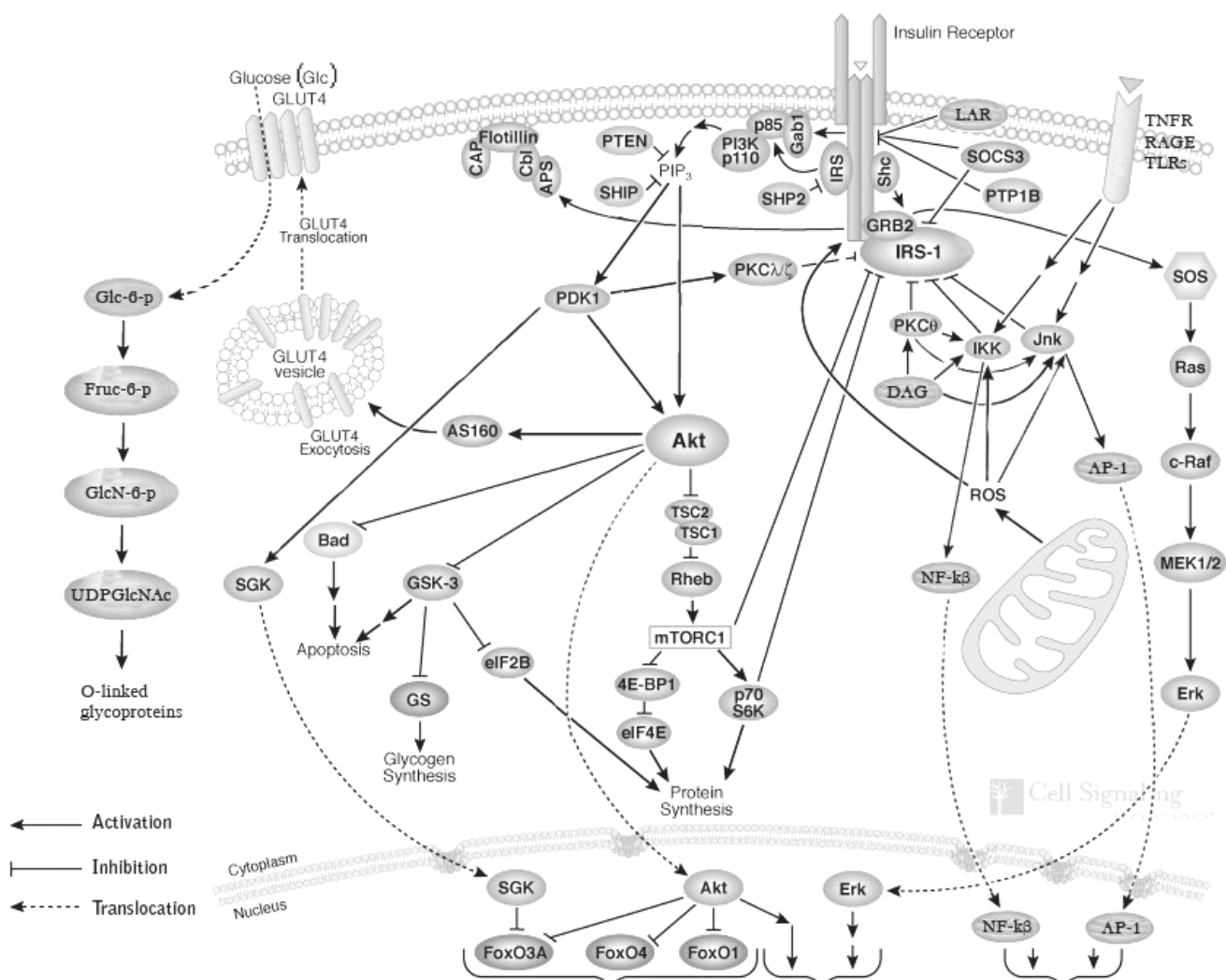
Ключові слова: інсулінорезистентність, субстрати інсулінового рецептора, фосфатидилінозитол-3-кіназа, серинове фосфорилування.

Під інсулінорезистентністю (ІР) розуміють порушення реалізації біологічних ефектів інсуліну внаслідок як незначного зниження, так і майже повної втрати чутливості до дії гормону жирової тканини, скелетних м'язів і печінки. ІР характеризується низьким рівнем поглинання глюкози периферичними інсулінзалежними тканинами, порушенням обміну глікогену в печінці за нормальної концентрації інсуліну і супроводжується розвитком низки клінічних проявів – гіперглікемії, гіперінсулінемії, дисліпідемії, артеріальної гіпертензії, ожиріння [1, 2].

Інсулін регулює активність ферментів гліколізу, глюконеогенезу, синтезу глікогену, глікогенолізу, ліпогенезу та β -окиснення жирних кислот, а також ферментів, які гальмують мобілізацію жирів і прискорюють захоплення жирних кислот з крові. За участі інсуліну відбувається стимуляція синтезу білків, нуклеїнових кислот та здійснюється модулюючий вплив на клітинну проліферацію і апоптоз [3,

4]. Опосередкована інсуліном сигналізація реалізується через зв'язування молекули інсуліну з поверхневими рецепторами клітин-мішеней. Інсуліновий рецептор є гетеротетрамером, що складається з двох позаклітинних ліганд-зв'язувальних α -субодиниць та двох трансмембранних β -субодиниць з тирозинкіназною активністю. Залежно від типу клітин і спорідненості до ліганду вирізняють дві ізоформи рецептора, які є результатом альтернативного сплайсингу за екзоном 11, – це довша В-форма, що характеризується спорідненістю лише до інсуліну і переважає в м'язовій, жировій тканині і печінці, та коротша А-форма, здатна зв'язувати, окрім інсуліну, ще й інсуліноподібний ростовий фактор-2 та виявляється переважно в клітинах центральної нервової системи та гемопоетичних клітинах [5].

Приєднання до рецептора молекули інсуліну обумовлює активацію тирозинкіназної активності та аутофосфорилування однієї з β -субодиниць за залишками тирозину в положеннях 1158, 1162, 1163, що є важливою умовою ампліфікації кіназної активності і подальшого рекрутування групи цито-



Функціонування і регуляція інсулінового сигнального каскаду (рисунок із сайту <http://www.cellsignal.com/> у нашій модифікації)

плазматичних білків – субстратів інсулінового рецептора – IRS-1–4, IRS-5/DOC4, IRS-6/DOC5, Gab1, Cbl, p60dok, трьох ізоформ Shc (52, 46 і 64 кДа) та APS, які забезпечують передачу сигналу до наступних ланок каскаду і його дивергенцію. Взаємодія даних білків, зокрема, IRS і Shc з тирозином-960 та білків APS – з тирозином-1158/1162 каталітичного домену інсулінового рецептора викликає їхнє фосфорилування [4, 6], що необхідно для активації відповідних клітинних сигнальних каскадів.

Виокремлюють три основних шляхи реалізації біологічної дії інсуліну – фосфатидилінозитол-3-кіназний каскад (PDK1, PKB/Akt, PKC, mTOR), через який відбувається регуляція вуглеводного, ліпідного і білкового обміну, транслокація та вбудовування у плазматичну мембрану міоцитів і адипоци-

тів переносника глюкози Glut-4, а також виявляється антиапоптична дія інсуліну; через Ras/MAP-кіназний шлях (Shc і меншою мірою IRS, Sos, Ras, Raf, MEK і MAP-кінази) забезпечується прояв мітогенних, проліферативних і протизапальних ефектів інсуліну; CAP/Cbl/Tc10 шлях є альтернативним механізмом контролю переміщення Glut-4 [1, 7] (рисунок).

Варто відмітити, що в гепатоцитах глюкоза надходить всередину клітини за інсулін-незалежним механізмом з використанням глюкозного транспортера Glut-2, функціонування якого залежить від градієнта концентрації глюкози. Інсулін опосередковано впливає на транспортування глюкози всередину клітин, індукуючи синтез ферменту глюкокінази [8].

На клітинному рівні передумовою для формування стану ІР слугують відхилення у функціонуванні будь-якого з компонентів сигнального каскаду, але зазвичай загальна ІР має системний характер внаслідок комплексу взаємообумовлених порушень в різних органах у відповідь на метаболічний, нейроендокринний стрес, генетичні дефекти та дію факторів довкілля.

Згідно з даними літератури, виділяють декілька потенційних механізмів ІР, які реалізуються на рецепторному й пострецепторному рівнях і можуть бути пов'язані із зміною вмісту чи порушенням функціонування ключових молекул в результаті мутацій, посттрансляційних модифікацій або їхньої взаємодії з певними білковими факторами [1, 2, 9, 10].

У пацієнтів з гострою формою ІР ідентифіковано низку мутацій інсулінового рецептора, які залежно від механізмів ураження функцій рецептора поділяють на декілька класів [11, 12]. Це, зокрема, мутації, які внаслідок падіння рівня мРНК інсулінового рецептора, зниження ефективності посттрансляційного процесингу пререцепторів, порушення транспортування через ендоплазматичний ретикулум та апарат Гольджі до плазматичної мембрани обумовлюють зменшення кількості поверхневих рецепторів. Мутації у позаклітинному ліганд-зв'язувальному домені є критичними для взаємодії з молекулою інсуліну, а мутації в β -субодиниці, зокрема, в сайті зв'язування АТФ чи в будь-якому з сайтів фосфорилування унеможливають прояв тирозинкіназної активності. Рееструють також мутації в гені інсуліну, наслідком чого є синтез молекул з пригніченою біологічною активністю чи зниженою афінністю до рецептора.

Потрібно зазначити, що причинами ІР можуть бути як порушення в системі реалізації ефектів інсуліну, так і надлишок контрінсулярних гормонів (глюкокортикоїди, катехоламіни, соматотропін, тиреоїдні гормони), тому ІР діагностується при багатьох хворобах, пов'язаних з гормональним дисбалансом. Це синдром Іценко-Кушинга, акромегалія, артеріальна гіпертензія, тиреотоксикоз, феохромоцитома та ін. [13, 14].

ІР є основним патогенетичним механізмом розвитку цукрового діабету 2-го типу та компонентом метаболічного синдрому. Одночасно з інсуліном β -

клітини підшлункової залози секретують поліпептид амелін, що діє як антагоніст інсуліну в периферичних тканинах. Концентрація амеліну, необхідна для індукції ІР, має бути в 1000 раз вища за фізіологічний рівень, що іноді зустрічається у пацієнтів з інсуліномами [12].

Генетичні дефекти, які призводять до синтезування неповноцінних інсулінових рецепторів, лежать в основі низки спадкових захворювань, об'єднаних під загальною назвою синдром типу А (це синдром Рабсона-Менденхолла, лепречаунізм, акантоз, ліпоатрофічний діабет), на відміну від синдрому типу В, коли ІР розвивається як наслідок утворення антитіл до рецептора, що часто має місце при системній червоній вовчанці, ревматоїдному артриті, телеангіектазії. Варто згадати, що при синдромах типу В може спостерігатися гіпоглікемія, оскільки іноді антитіла діють як інсулінові міметики [11, 14, 15].

Взагалі генетично обумовлені порушення структури інсулінового рецептора є досить рідкісними і в разі мутацій в обох алелях гена призводять до загибелі організму впродовж перших років життя, тоді як мутації в одному з алелів без залучення інших генетичних дефектів чи дії зовнішніх чинників не розглядають як вагому передумову розвитку ІР.

Одним з механізмів регуляції кількості рецепторів є підвищення концентрації інсуліну. При цьому зменшення числа рецепторів може носити оборотний характер у разі їхнього вилучення з плазматичної мембрани в комплексі з лігандом або бути необоротним при посиленні їхнього протеолізу [16, 17]. У цілому інтерналізація рецепторів, з одного боку, є засобом контролю їхньої кількості залежно від сили і тривалості дії гормону, з іншого, – забезпечує субклітинну компартменталізацію сигнальних шляхів, оскільки активований комплекс ліганд-рецептор здатний внаслідок ендцитозу надходити в цитоплазму і фосфорилувати низку субстратів, просторово віддалених від плазматичної мембрани. При тривалій гіперінсулінемії спостерігається посилення опосередкованого лізосомами протеолізу рецепторів через активацію одного з адапторних білків c-Cbl інсулінового сигнального каскаду, приєднання якого до цитоплазматичного домену рецепторів обумовлює їхнє убівітинування та, відповідно, спрямовує на шлях протеолізу [18].

Згідно з даними [19], продукт деградації β -субодиниці рецептора, а саме – цитозольний фрагмент β' може взаємодіяти з інтактними інсуліновими рецепторами та інгібувати процес їхнього аутофосфорилування.

Відмітимо, що зменшення кількості інсулінових рецепторів саме по собі не є необхідною умовою для виникнення стану IP. Більшість досліджень переконливо свідчать, що порушення, які можуть слугувати поштовхом для розвитку IP, виявляються в основному на пострецепторному рівні. Беручи до уваги, що реалізація переважної більшості метаболічних ефектів інсуліну відбувається через залучення білків IRS та активацію ферменту фосфатидилінозитол-3-кінази (PI3-кінази), саме ураження окремих ланок функціонування фосфатидилінозитольного каскаду є визначальним.

Молекулярним механізмом, потенційно здатним спричинити IP, є порушення активності PI3-кінази внаслідок дисбалансу кількості її субодиниць [20]. Родина PI3-кіназ включає три класи: ферменти, що належать до 1A класу, – це гетеродимери, які складаються з каталітичної 110 кДа (p110) та регуляторної 85 кДа (p85) субодиниць, остання, окрім взаємодії з IRS, забезпечує ще й стабілізацію p110. Виділяють декілька ізоформ регуляторної субодиниці, що кодуються різними генами, – повнорозмірні p85 α і p85 β та вкорочений варіант p85 γ . Наслідком альтернативного сплайсингу p85 α є утворення позбавлених N-кінцевого домену форм p55 α і p50 α [9].

Незважаючи на те, що за фізіологічних умов близько 30 % p85 α перебуває у вільному, не асоційованому з каталітичною субодиницею стані, між мономерами p85 α та гетеродимерами p85 α -p110 існує певний баланс, порушення якого впливає на активність PI3-кінази, оскільки вільна субодиниця не тільки не спроможна проводити сигнал, а й конкурує з p85 α -p110 за сайти зв'язування з білками IRS [21].

Регулювальний вплив p85 α субодиниці на функціонування фосфатидилінозитольної ланки інсулінового каскаду виявляється також на рівні активації клітинних фосфатаз ліпідів [22].

При гіперекспресії субодиниці p85 α , але не її альтернативних форм спостерігається пригнічення

ефектів інсуліну, пов'язаних з залученням PI3-кінази, тоді як при зниженому вмісті p85 α покращується чутливість тканини до дії інсуліну [23]. Проте у тварин з делетованим геном p85 α спостерігається зменшення вмісту каталітичної субодиниці p110, оскільки при цьому не відбувається її стабілізації та, відповідно, блокується фосфатидилінозитольна активність [21, 24].

Безпосередня взаємодія між окремими інтермедіатами інсулінового сигнального каскаду, активація ключових ефекторних молекул, а також прояв тирозинкіназної активності рецепторів значною мірою залежать від співвідношення процесів тирозинового і серинового фосфорилування.

Так, при порушенні фосфорилування тирозину-960 у β -субодиниці інсулінового рецептора відмічено пригнічення більшості інсулін-опосередкованих ефектів, оскільки при цьому унеможливується приєднання IRS і, отже, подальша трансдукція сигналу до наступних ланок каскаду.

Встановлено, що інгібування тирозинкіназної активності може відбуватися за рахунок приєднання до ліганд-зв'язувальної ділянки рецептора мембранного глікопротеїну PC-1, гіперекспресія якого спостерігається за IP [25]. На відміну від тирозинового фосфорилування, фосфорилування білків за залишками серину діє як термінуючий фактор інсулінової сигналізації.

Оскільки IRS є безпосередніми субстратами тирозинкіназної активності β -субодиниці рецептора, їх розглядають як першу критичну ланку на шляху трансдукції сигналу. Надмірне фосфорилування білків IRS за сериновими групами реєструється на багатьох моделях IP та у пацієнтів з хворобами, патогенез яких пов'язаний з IP. У молекулі IRS розрізняють більше 100 сайтів для різних кіназ, серед яких, базуючися на результатах мутаційного аналізу і використанні специфічних антитіл, ідентифіковано залишки серину, визначальні для функціонування всього інсулінового каскаду [26, 27].

На основі результатів експериментів *in vitro* встановлено, що наслідком серинового фосфорилування IRS може бути пригнічення їхнього фосфорилування за залишками тирозину, індукція дисоціації між інсуліновим рецептором і IRS та/або між IRS і PI3-кіназою. Так, фосфорилування сери-

ну у положеннях 307 і 318 викликає конформаційні зміни у РТВ-домені IRS-1, що знижує його спорідненість до мембран та інсулінового рецептора, у той час як фосфорилування за серином-612, -632, -662 і -731 у С-кінцевому домені створює стеричні перешкоди для взаємодії з P13-кіназою [23, 24, 28]. Показано [9], що до фосфорильованого за сериновими залишками IRS-1 може приєднуватися білок 14-3-3 β і така взаємодія обумовлює зниження каталітичної активності, асоційованої з IRS-1 P13-кінази. Варто відмітити, що тривале зростання концентрації інсуліну також індукує серинове фосфорилування IRS-1 у скелетних м'язях та жировій тканині, яке слугує фізіологічно важливим механізмом регуляції клітинного метаболізму залежно від змін умов середовища.

Ще одним наслідком порушення статусу фосфорилування є посилення розщеплення IRS білків у результаті їхнього вивільнення з пулу внутрішньоклітинних мембранних везикул, з якими зв'язана більшість IRS-1. Причому залежно від типу клітин та виду IRS переважає протеосомний або лізосомний шлях деградації [17, 29].

Активация залежного від протеосом протеолізу субстратів інсулінового рецептора спостерігається також у відповідь на тривалу гіперінсулінемію і накопичення прозапальних цитокінів та пов'язана з посиленням експресії генів білків родини супресорів цитокінової сигналізації SOCS-1, -3, -6 [8, 30, 31]. Дані білки спрямовують IRS-1 і -2 на шлях протеолітичного розщеплення, забезпечуючи їхню взаємодію з ферментом E₃-убіквітин-лігазою. Окрім того, безпосередня взаємодія SOCS-3 з інсуліновим рецептором унеможливує прояв тирозинкіназної активності.

Активация серинових кіназ спостерігається при запальних процесах, індукції оксидативного/нітрозного стресу чи стресу ендоплазматичного ретикулу, мітохондріальній дисфункції, накопиченні продуктів ліполізу, при гіперглікемії – чинників, що розглядаються як потенційні стимулятори IP.

У цілому кінази білків IRS можна поділити на дві групи, до однієї з яких належать ферменти (mTOR/S6K1, MAP-кінази, PKC ξ) – медіатори інсулінової сигналізації, що за зворотно-негативним механізмом регулюють функціонування IRS і обумовлю-

ють розвиток IP при тривалій гіперінсулінемії. Інша група об'єднує кінази (JNK, IKK β , GSK, mPLK), що активуються у відповідь на дію стрес-агентів чи при порушенні клітинного гомеостазу і безпосередньо не залучені до трансдукції сигналу від інсулінового рецептора [31–34].

На сьогодні всі відомі механізми активації серинових кіназ можна звести до рецепторного та безрецепторного шляхів, обидва з яких роблять певний внесок у патогенез IP. Так, значне підвищення активності JNK, IKK β реєструється в клітинах печінки, м'язів, жирової тканини за ожиріння та діабету 2-го типу [35].

Зростання вмісту прозапальних цитокінів інтерлейкіну-6, -1 β , TNF- α внаслідок вивільнення з адипоцитів або посилення продукування інфільтрованими в жирову тканину та скелетні м'язи макрофагами і нейтрофілами призводить до активації кіназ за класичним механізмом, пов'язаним із залученням поверхневих рецепторів до даних агентів.

Індукована рецепторами активация JNK і IKK β може відбуватися також за участі Toll-подібних рецепторів (TLR) та рецепторів до кінцевих продуктів неферментативного глікозилювання (RAGE) при дисліпідемії і гіперглікемії відповідно [8, 31, 36]. Встановлено, що насичені жирні кислоти можуть виступати лігандами для деяких членів родини Toll-подібних рецепторів, зокрема, для TLR-2, -4, які виявляються у клітинах жирової тканини, м'язів і печінки.

На відміну від кінази JNK, яка безпосередньо здійснює фосфорилування серинових залишків субстратів інсулінового рецептора, дія прозапальної кінази IKK β реалізується переважно через залучення транскрипційного фактора NF- κ B [1, 30]. IKK β -індуковане фосфорилування інгібіторного білка I κ B стимулює його протеоліз, сприяючи таким чином вивільненню NF- κ B з-під контролю даного інгібітора, його транслокації до ядра та активації транскрипції низки генів, продукти яких здатні впливати на IP. Це, зокрема, індукційна NO-синтаза. Зростання вмісту оксиду азоту та його високореактивного похідного пероксинітриду призводить до посилення відповідно S-нітрозилювання або нітрування власне молекули рецептора, IRS-1, P13-кінази і/чи Акт, що зазвичай спричиняє їхню інактивацію і по-

дальшу деградацію [37–39]. Використання методів мас-спектрометрії дозволило ідентифікувати в молекулі IRS-1 п'ять тирозинових залишків – потенційних мішеней пероксинітриду, серед яких тирозин-939 виявився критичним для взаємодії з PI3-кіназою. Окрім того, нітрування регуляторної субодиниці даного ферменту обумовлює її від'єднання від каталітичної субодиниці PI3-кінази, що слугує додатковим молекулярним механізмом ураження функціонування фосфатидилінозитольної ланки інсулінового каскаду [40].

Дослідженнями останніх років підтверджується гіпотеза щодо ролі активних форм кисню та азоту як провідних медіаторів безрецепторного шляху активації серин/треонінових кіназ [41]. Посилене їхнє утворення спостерігається при запальних процесах, метаболічних стресах, обумовлених, зокрема, дисрегуляцією ліпідного та вуглеводного обміну, і першочергово пов'язано з порушенням функціонування мітохондрій [37, 42, 43]. Так, гіперактивація процесів окиснення жирних кислот або глюкози створює додаткове навантаження на електрон-транспортний ланцюг, що супроводжується утворенням великої кількості радикалів супероксиду.

На сьогодні основним патогенетичним механізмом розвитку IP за умов дисліпідемії вважають надмірне утворення недоокиснених продуктів метаболізму жирних кислот – жк-ацил-КоА, діацилгліцеролу і цераміду в результаті гіперактивації процесів окиснення надлишку жирних кислот або при мітохондріальній дисфункції [44, 45]. Автори роботи [46] виявили взаємозв'язок між розвитком IP, внутрішньоклітинною акумуляцією інтермедіатів ліпідного обміну та порушенням функціонування мітохондрій внаслідок накопичення з віком мутацій у мДНК, генетично обумовлених дефектів ферментів електронтранспортного ланцюга чи зменшення кількості мітохондрій.

Реалізація впливу метаболітів ліпідного обміну на функціонування інсулінового сигнального каскаду може відбуватися декількома шляхами, один з яких пов'язаний із залученням серин/треонінових кіназ, інший – з активацією клітинних фосфатаз. Так, діацилгліцерол та його попередник жк-ацил-КоА є алостеричними активаторами ізоформ β , δ та θ протеїнкінази C – ферменту, який безпосередньо

каталізує фосфорилування серинових залишків інсулінового рецептора і IRS-1 та активує прозапальні кінази JNK і IKK β , тим самим повністю блокуючи надходження сигналу до наступних клітинних ефекторів [47, 48].

Тривалість дії гормонального сигналу залежить також від співвідношення процесів фосфорилування/дефосфорилування ключових молекул. Субстрати клітинних фосфатаз виявляються на всіх рівнях трансдукції сигналу. До негативних регуляторів тирозинкіназної активності інсулінового рецептора належать цитоплазматична протеїн-тирозина фосфатаза PTP-1B і трансмембранна фосфатаза LAR, зростання рівня експресії яких у клітинах печінки і м'язів рееструють на багатьох моделях IP [49]. Вміст основного месенджера провідного шляху реалізації більшості метаболічних ефектів інсуліну – фосфоінозитол-3,4,5-трифосфату – залежить від активності фосфатаз фосфоліпідів Pten і Ship, які, видаляючи фосфатний залишок відповідно у положенні 3' або 5', переводять його у функціонально неактивний дифосфат [50]. Активація за участі цераміду протеїнової фосфатази 2A обумовлює обривання сигналу на рівні Akt/PKB.

Згідно з концепцією, запропонованою авторами [51], стимуляція процесу β -окиснення жирних кислот викликає інгібування активності ключових ферментів гліколізу (піруватдегідрогенази, фосфофруктокінази, гексокінази) і синтезу глікогену. При цьому певна участь у пригніченні швидкості гліколізу відводиться активним кисневим метаболітам. Їхню дію можна пояснити як з позиції зменшення внутрішньоклітинного фонду НАД⁺ внаслідок індукованих порушенням цілісності ДНК процесів АДФ-рибозилування, так і безпосередньою інактивацією ферменту гліколізу гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогенази в результаті зазначеної модифікації [52]. Блокування процесів катаболізму глюкози призводить до зростання внутрішньоклітинного вмісту глюкози та пригнічення її транспортування всередину клітини навіть за умови підвищеної концентрації у кров'яному руслі. Ситуація ускладнюється на фоні посиленого вивільнення глюкози клітинами печінки, оскільки одним із наслідків зростання вмісту ацетил-КоА є активація глюконеогенезу та глюकोзо-6-фосфатази – ферменту, який дефосфори-

лює глюкозу, чим сприяє її вивільненню з гепатоцитів [51].

Явище впливу гіперглікемії на чутливість тканин до дії інсуліну та на секрецію інсуліну β-клітинами підшлункової залози відоме як глюкозотоксичність. Виділяють декілька механізмів, причетних до розвитку індукованої гіперглікемією ІР. Це, зокрема, активація гексозамінового шунту катаболізму глюкози, внаслідок якого за фізіологічних умов перетворюється близько 1–3 % глюкози [10]. Експериментальними дослідженнями продемонстровано кореляцію між зростанням рівня експресії гена ключового ферменту даного шляху – глутамін:фруктозо-1,6-дифосфат амідотрансферази, накопиченням метаболіту гексозамінового шляху N-ацетилглюкозаміну та пригніченням транслокації глюкозних транспортерів Glut-4 до плазматичної мембрани у клітинах скелетних м'язів і жирової тканини. Глюкозаміни обумовлюють O-глікозилювання за сериновими та треоніновими залишками, конкуруючи таким чином за сайти фосфорилування з відповідними кіназами. Окрім того, в роботах [53, 54] показано, що при активації гексозамінового шляху підвищується транскрипція низки генів прозапальних цитокінів і протромбінових факторів за рахунок структурних модифікацій транскрипційних факторів і сигнальних молекул. Ще одним механізмом посилення патогенетичної дії гексозамінів є порушення процесів глікозилювання мембранних і секреторних білків в ендоплазматичному ретикулумі та індукція стресу останнього внаслідок накопичення білків неправильної конформації [55]. Розвиток стресу ендоплазматичного ретикулуму через активацію транскрипційних факторів SREBP і NF-κB, в свою чергу, спричиняє відповідно ураження процесів метаболізму ліпідів, їхню акумуляцію в клітинах та активацію внутрішньоклітинних прозапальних шляхів [56].

При тривалій гіперглікемії відбувається неферментативна взаємодія глюкози з вільними аміногрупами білків з утворенням глікозилюваних продуктів, подальший метаболізм яких супроводжується появою кінцевих продуктів глікозилювання (AGEs). Варто зазначити, що молекула інсуліну також зазнає глікозилювання, яке впливає на її біологічну активність. У разі позаклітинного утворення AGEs їхнє залучення до патогенезу ІР проявля-

ється у взаємодії з поверхневими клітинними рецепторами до кінцевих продуктів глікозилювання – RAGE та в подальшій активації пов'язаних з NF-κB прозапальних сигнальних каскадів [57], тоді як один із внутрішньоклітинних попередників під час утворення AGEs – метилглюксаль здатний безпосередньо утворювати комплекс з IRS-1, що через індукцію конформаційних змін у молекулі останнього блокує тирозинове фосфорилування та унеможливорює адапторну функцію даних білків.

Детальне дослідження молекулярних механізмів, які визначають формування стану клітинної інсулінорезистентності, не лише дозволить оптимізувати комплексну терапію захворювань, в основі яких лежить явище інсулінорезистентності (цукровий діабет 2-го типу, метаболічний синдром, серцево-судинні патології), а й може слугувати передумовою для розробки ефективних методів профілактики зазначених станів.

N. G. Raksha, O. M. Savchuk, L. I. Ostapchenko

Molecular mechanisms of development of cellular insulin resistance

Taras Shevchenko National University of Kyiv
64, Volodymyrska Str., Kyiv, Ukraine, 01601

Summary

Some of the pathogenetic mechanisms which cause the state of cellular insulin resistance on receptor and postreceptor levels were analyzed. Special attention is given to the analysis of factors which influence the activity of the components of phosphatidylinositol chain of insulin signaling cascade.

Keywords: insulin resistance, insulin receptor substrates, phosphatidylinositol-3-kinase, serine phosphorylation.

Н. Г. Рахша, А. Н. Савчук, Л. И. Остапченко

Молекулярные механизмы развития клеточной инсулинорезистентности

Резюме

Рассмотрены некоторые патогенетические механизмы, обуславливающие формирование состояния клеточной инсулинорезистентности на рецепторном и пострецепторном уровнях. Значительное внимание уделено анализу факторов, влияющих на функционирование компонентов фосфатидилинозитольного звена инсулинового сигнального каскада.

Ключевые слова: инсулинорезистентность, субстраты инсулинового рецептора, фосфатидилинозитол-3-киназа, сериновое фосфорилирование.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Saini V. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus // World J. Diabetes. –2010. –1, N 3. –P. 68–75.

2. *Matthaei S., Stumvoll M., Kellerer M., Haring H. U.* Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance // *Endocrin. Rev.*—2000.—**21**, N 6.—P. 585–618.
3. *Lin Y., Sun Z.* Current views on type 2 diabetes // *J. Endocrinol.*—2010.—**204**, N 1.—P. 1–11.
4. *Denton R. M., Tavary J. M.* Molecular basis of insulin action on intracellular metabolism // *Int. textbook of diabetes mellitus* (2nd ed.) / Eds K. G. M. M. Alberti, P. Zimmet, R. A. DeFronzo, H. (Hon) Keen.—New York: John Wiley & Sons, 1997.—P. 469–488.
5. *Belfiore A., Frasca F., Pandini G., Sciacca L., Vigneri R.* Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease // *Endocrinol. Rev.*—2009.—**30**, N 6.—P. 586–623.
6. *Bevan P.* Insulin signalling // *J. Cell Sci.*—2001.—**114**, N 8.—P. 1429–1430.
7. *Choi K., Kim Y.* Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes // *Korean J. Intern. Med.*—2010.—**25**, N 2.—P. 119–129.
8. *Leclercq I. A., Da Silva Morais A., Schroyen B., Van Hul N., Geerts A.* Insulin resistance in hepatocytes and sinusoidal liver cells: mechanisms and consequences // *J. Hepatol.*—2007.—**47**, N 1.—P. 142–156.
9. *Virkamaki A., Ueki K., Kahn C. R.* Protein-protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance // *J. Clin. Invest.*—1999.—**103**, N 7.—P. 931–943.
10. *Balasubramanyam M., Rema M., Premanand C.* Biochemical and molecular mechanisms of diabetic retinopathy // *Curr. Sci.*—2002.—**83**, N 12.—P. 1506–1514.
11. *Flier J. S.* Insulin receptors and insulin resistance // *Ann. Rev. Med.*—1983.—**34**.—P. 145–160.
12. *Moller D. E., Flier J. S.* Insulin resistance – mechanisms, syndromes, and implications // *N. Engl. J. Med.*—1991.—**325**, N 13.—P. 938–946.
13. *Nosadini R., Del Prato S., Tiengo A., Valerio A., Muggeo M., Opocher G., Maniero F., Duner E., Marescotti C., Mollo F., Belloni F.* Insulin resistance in Cushing's syndrome // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*—1983.—**57**, N 3.—P. 529–536.
14. *Moller D. E., O'Rahilly S.* Syndromes of severe insulin resistance: clinical and pathophysiological features // *Insulin resistance* / Eds D. Moller.—New York: John Wiley & Sons, 1993.—P. 49–71.
15. *Yamasaki H., Yamaguchi Y., Fujita N., Kato C., Kuwahara H., Yamauchi M. D., Yamakawa K., Abe T., Ozaki M., Sera Y., Uotani S., Kawasaki E., Takino H., Eguchi K.* Anti-insulin receptor autoantibodies in a patient with type B insulin resistance and fasting hypoglycemia // *Acta Diabetol.*—2000.—**37**, N 4.—P. 189–196.
16. *Wilcox G.* Insulin and insulin resistance // *Clin. Biochem. Rev.*—2005.—**26**, N 2.—P. 19–39.
17. *Mayer C. M., Belsham D. D.* Central insulin signaling is attenuated by long-term insulin exposure via insulin receptor substrate-1 serine phosphorylation, proteasomal degradation, and lysosomal insulin receptor degradation // *Endocrinology.*—2010.—**151**, N 1.—P. 75–84.
18. *Ahmed Z., Smith B. J., Pillay T. S.* The APS adapter protein couples the insulin receptor to the phosphorylation of c-Cbl and facilitates ligand-stimulated ubiquitination of the insulin receptor // *FEBS Lett.*—2000.—**475**, N 1.—P. 31–34.
19. *Knutson V. P., Donnelly P. V., Balba Y., Lopez-Reyes M.* Insulin resistance is mediated by a proteolytic fragment of the insulin receptor // *J. Biol. Chem.*—1995.—**270**, N 42.—P. 24972–24981.
20. *Shepherd P. R., Withers D. J., Siddle K.* Phosphoinositide 3-kinase: the key switch mechanism in insulin signalling // *Biochem. J.*—1998.—**333**, pt 3.—P. 471–490.
21. *Ueki K., Fruman D. F., Brachmann S. M., Tseng Y. H., Cantley L. C., Kahn C. R.* Molecular balance between the regulatory and catalytic subunits of phosphoinositide 3-kinase regulates cell signaling and survival // *Mol. Cell Biol.*—2002.—**22**, N 3.—P. 965–977.
22. *Chagpar R. B., Links P. H., Pastor M. C., Furber L. A., Hawrysh A. D., Chamberlain M. D., Anderson D. H.* Direct positive regulation of PTEN by the p85 subunit of phosphatidylinositol 3-kinase // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.*—2010.—**107**, N 12.—P. 5471–5476.
23. *Draznin B.* Molecular mechanisms of insulin resistance: serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and increased expression of p85alpha: the two sides of a coin // *Diabetes.*—2006.—**55**, N 8.—P. 2392–2397.
24. *Bouzakri K., Roques M., Gual P., Espinosa S., Guebre-Egziabher F., Riou J. P., Laville M., Le Marchand-Brustel Y., Tanti J. F., Vidal H.* Reduced activation of phosphatidylinositol-3 kinase and increased serine 636 phosphorylation of insulin receptor substrate-1 in primary culture of skeletal muscle cells from patients with type 2 diabetes // *Diabetes.*—2003.—**52**, N 6.—P. 1319–1325.
25. *Goldfine I. D., Maddux B. A., Youngren J. F., Reaven G., Accili D., Trischitta V., Vigneri R., Frittitta L.* The role of membrane glycoprotein plasma cell antigen 1/ectonucleotide pyrophosphatase phosphodiesterase 1 in the pathogenesis of insulin resistance and related abnormalities // *Endocr. Rev.*—2008.—**29**, N 1.—P. 62–75.
26. *Boura-Halfon S., Zick Y.* Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*—2009.—**296**, N 4.—P. 581–591.
27. *Werner E. D., Lee J., Hansen L., Yuan M., Shoelson S. E.* Insulin resistance due to phosphorylation of insulin receptor substrate-1 at serine 302 // *J. Biol. Chem.*—2004.—**279**, N 34.—P. 35298–35305.
28. *Aguirre V., Werner E. D., Giraud J., Lee Y. H., Shoelson S. E., White M. F.* Phosphorylation of Ser307 in insulin receptor substrate-1 blocks interactions with the insulin receptor and inhibits insulin action // *J. Biol. Chem.*—2002.—**277**, N 2.—P. 1531–1537.
29. *Pederson T. M., Kramer D. L., Rondinone C. M.* Serine/threonine phosphorylation of IRS-1 triggers its degradation: possible regulation by tyrosine phosphorylation // *Diabetes.*—2001.—**50**, N 1.—P. 24–31.
30. *Savage D. B., Petersen K. F., Shulman G. I.* Mechanisms of insulin resistance in humans and possible links with inflammation // *Hypertension.*—2005.—**45**, N 5.—P. 828–833.
31. *Olefsky J. M., Glass C. K.* Macrophages, inflammation, and insulin resistance // *Annu. Rev. Physiol.*—2010.—**72**.—P. 219–46.
32. *Zeyda M., Stulnig T.* Obesity, inflammation, and insulin resistance – a mini-review // *Gerontology.*—2009.—**55**, N 4.—P. 379–386.
33. *Hiratani K., Haruta T., Tani A., Kawahara J., Usui I., Kobayashi M.* Roles of mTOR and JNK in serine phosphorylation, translocation, and degradation of IRS-1 // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*—2005.—**335**, N 3.—P. 836–842.
34. *Aguirre V., Uchida T., Yenush L., Davis R., White M. F.* The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307) // *J. Biol. Chem.*—2000.—**275**, N 1.—P. 9047–9054.
35. *Hirosumi J., Tuncman G., Chang L., Gorgun C. Z., Uysal K. T., Maeda K., Karin M., Hotamisligil G. S.* A central role for JNK in obesity and insulin resistance // *Nature.*—2002.—**420**, N 6913.—P. 333–336.
36. *Ramasamy R., Vannucci S. J., Yan S. S., Herold K., Yan S. F., Schmidt A. M.* Advanced glycation end products and RAGE: a

- common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation // *Glycobiology*.–2005.–**15**, N 7.–P. 16–28.
37. *Bashan N., Kovsan J., Kachko I., Ovadia H., Rudich A.* Positive and negative regulation of insulin signaling by reactive oxygen and nitrogen species // *Physiol. Rev.*–2009.–**89**, N 1.–P. 27–71.
 38. *Hess D. T., Matsumoto A., Kim S. O., Marshall H. E., Stamler J. S.* Protein S-nitrosylation: purview and parameters // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*–2005.–**6**, N 2.–P. 150–166.
 39. *Ischiropoulos H.* Biological selectivity and functional aspects of protein tyrosine nitration // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*–2003.–**305**, N 3.–P. 776–783.
 40. *el-Remessy A. B., Bartoli M., Platt D. H., Fulton D., Caldwell R. B.* Oxidative stress inactivates VEGF survival signaling in retinal endothelial cells via PI 3-kinase tyrosine nitration // *J. Cell. Sci.*–2005.–**118**, pt 1.–P. 243–252.
 41. *Evans J. L., Goldfine I. D., Maddux B. A., Grodsky G. M.* Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes // *Endocr. Rev.*–2002.–**23**.–P. 599–622.
 42. *Eriksson J. W.* Metabolic stress in insulin's target cells leads to ROS accumulation – a hypothetical common pathway causing insulin resistance // *FEBS Lett.*–2007.–**581**, N 19.–P. 3734–3742.
 43. *Maassen J. A., Hart L. M., Van Essen E., Heine R. J., Nijpels G., Jahangir Tafrechi R. S., Raap A. K., Janssen G. M., Lemkes H. H.* Mitochondrial diabetes: molecular mechanisms and clinical presentation // *Diabetes*.–2004.–**53**, suppl. 1.–P. 103–109.
 44. *Petersen K. F., Shulman G. I.* New insights into the pathogenesis of insulin resistance in humans using magnetic resonance spectroscopy // *Obesity*.–2006.–**14**, suppl. 1.–P. 34–40.
 45. *Le Marchand-Brustel Y., Gual P., Gremeaux T., Gonzalez T., Barres R., Tanti J. F.* Fatty acid-induced insulin resistance: role of insulin receptor substrate 1 serine phosphorylation in the retro-regulation of insulin signalling // *Biochem. Soc. Trans.*–2003.–**31**, pt 6.–P. 1152–1156.
 46. *Savage D. B., Petersen K. F., Shulman G. I.* Disordered lipid metabolism and the pathogenesis of insulin resistance // *Physiol. Rev.*–2007.–**87**, N 2.–P. 507–520.
 47. *Koya D., King G. L.* Protein kinase C activation and the development of diabetic complications // *Diabetes*.–1998.–**47**, N 6.–P. 859–866.
 48. *Lam T. K., Yoshii H., Haber C. A., Bogdanovic E., Lam L., Fantus I. G., Giacca A.* Free fatty acid-induced hepatic insulin resistance: a potential role for protein kinase C-delta // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*–2002.–**283**, N 4.–P. 682–691.
 49. *Goldstein B. J., Ahmad F., Ding W., Li P. M., Zhang W. R.* Regulation of the insulin signalling pathway by cellular protein-tyrosine phosphatases // *Mol. Cell Biochem.*–1998.–**182**, N 1–2.–P. 91–99.
 50. *Lazar D. F., Saltiel A. R.* Lipid phosphatases as drug discovery targets for type 2 diabetes // *Nat. Rev. Drug. Discov.*–2006.–**5**, N 4.–P. 333–342.
 51. *Randle P. J., Garland P. B., Hales C. N., Newsholme E. A.* The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus // *Lancet*.–1963.–**1**, N 7285.–P. 785–789.
 52. *Garcia Soriano F., Virag L., Jagtap P., Szabo E., Mabley J. G., Liaudet L., Marton A., Hoyt D. G., Murthy K. G., Salzman A. L., Southan G. J., Szabo C.* Diabetic endothelial dysfunction: the role of poly(ADP-ribose) polymerase activation // *Nat. Med.*–2001.–**7**, N 1.–P. 108–113.
 53. *Wells L., Hart G.* O-GlcNAc turns twenty: functional implications for post-translational modification of nuclear and cytosolic proteins with a sugar // *FEBS Lett.*–2003.–**546**, N 1.–P. 154–158.
 54. *Du X. L., Edelstein D., Rossetti L., Fantus I. G., Goldberg H., Ziyadeh F., Wu J., Brownlee M.* Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*.–2000.–**97**, N 22.–P. 12222–12226.
 55. *Kaneto H., Nakatani Y., Matsuhisa M.* ER stress and the JNK pathway in insulin resistance // *Gene Ther. Mol. Biol.*–2004.–**8**.–P. 515–522.
 56. *James L. R., Tang D., Ingram A., Ly H., Thai K., Cai L., Scholey J. W.* Flux through the hexosamine pathway is a determinant of nuclear factor kappaB-dependent promoter activation // *Diabetes*.–2002.–**51**, N 4.–P. 1146–1156.
 57. *Peppas M., Uribarri J., Vlassara H.* Glucose, advanced glycation end products, and diabetes complications: What is new and what works // *Clin. Diabetes*.–2003.–**21**, N 4.–P. 186–187.

UDC 577.15:616.379-008.64

Received 15.03.11