Биомедицинская химия, 2016 том 62, вып. 1, с. 5-13.

Ю.А. Панков
10.02.1930 - 12.02.2016

АДИПОГЕННАЯ ФУНКЦИЯ И ДРУГИЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ИНСУЛИНА

Эндокринологический научный центр,
115478, Москва, ул. Москворечье, 1

Исследования, проведенные на экспериментальных животных с нокаутом гена рецептора инсулина – *Insr* – во всем теле или в отдельных органах, а также генов других белков-проводников действия инсулина в клетках, внесли значительный вклад в изучение регуляции инсулином обмена веществ. Первым органом, на который действует инсулин, является печень, поскольку весь инсулин, секретируемый β-клетками, вместе с продуктами расщепления белков, жиров и углеводов в желудочно-кишечном тракте, в первую очередь, поступает в именно печень. У мышей LIRKO с нокаутом *Insr* в печени тормозился синтез высокомолекулярных соединений из аминокислот, глюкозы и жирных кислот. Уровень глюкозы в крови и толерантность к глюкозе у мышей LIRKO со временем приходили в норму, а на поздних этапах повышение уровня глюкозы сменялось гипогликемией. Обнаруженные нарушения находят объяснение, если принять во внимание, что одной из главных функций инсулина является стимуляция накопления энергии путём активации инсулином отложения триглицеридов в жировых депо. У мышей FIRKO с избирательным нокаутом *Insr* в жировой ткани снижено поступление глюкозы в адипоциты и её трансформация в липиды. Однако уровень жировых запасов у таких животных оставался нормальным, возможно, вследствие сохранения рецептора инсулина в печени и активации инсулином продукции триглицеридов, которые поддерживали нормальный уровень жировых запасов и эффективное функционирование жировой ткани, несмотря на нарушение метаболизма глюкозы в жировой ткани. Нокаут гена *Insr* в мышцах блокировал потребление глюкозы миоцитами, но не индуцировал гипергликемию, а в жировой ткани приводил к небольшому увеличению жировых запасов. Сходные результаты получены на мышах с нокаутом гена транспортера глюкозы 4 *GLUT4* в мышцах и/или жировой ткани. Микроинъекции инсулина в 4 желудочек мозга (ICV) и медиобазальный гипоталамус (MBH) не влияли на уровень инсулина в общей циркуляции, но эффективно активировали липогенез и тормозили липолиз в жировой ткани. Они индуцировали ожирение, сходное с обычным ожирением, когда уровень инсулина в крови возрастает. Эти результаты могут служить дополнительным подтверждением важности адипогенной функции инсулина в механизмах регуляции общего метаболизма.

Ключевые слова: гликемия, жирные кислоты, триглицериды, ожирение, сахарный диабет, рецептор инсулина, ген, нокаут гена

DOI: 10.18097/PBMC20166201005

ВВЕДЕНИЕ

Сахарный диабет (СД) – заболевание, которое привлекает внимание и вызывает беспокойство в обществе. Оно известно давно, и его проявлением является повышение уровня сахара крови, который при прогрессировании заболевания появляется в моче. При тяжелых формах СД происходит избыточное образование кетоновых тел, развивается кетоацидоз, в моче и выдыхаемом воздухе появляется ацетон. Без эффективного лечения заболевание быстро приводит к летальному исходу.

Открытие инсулина

Серьёзным достижением в изучении СД стало открытие гормона инсулина, секретируемого в кровь островковыми клетками поджелудочной железы; сегодня это открытие приписывается Бантингу (Banting) и Бесту (Best) [1]. Однако история исследования инсулина была довольно сложной. Многократные попытки выделения гормона из поджелудочной часто были близки к завершению в период между 1890 и 1920 годами, но это произошло лишь в 1922 году, когда Бантинг (Frederic Grant

УДК 577.175.722
©Панков

Banting) работал в отделе физиологии, возглавляемом Маклеодом (John James Richard Macleod) в Университете Торонто (Канада). В процессе работы постоянно возникали трудности, препятствовавшие достижению положительных результатов. По инициативе Бантинга в группу были привлечены Бест (Charles Herbert Best) и квалифицированный биохимик Коллип (James Bertram Collip), который разработал эффективную схему выделения инсулина из экстрактов поджелудочной железы [2]. Предложенная Коллипом схема была воспроизведена Бестом в лаборатории и легла в основу масштабного производства инсулина фирмой Eli Lilly. Инсулин стал широко применяться во всем мире для лечения пациентов, страдавших инсулин-зависимым СД (СД1), и изучения механизмов действия инсулина.

Открытие инсулина произвело большое впечатление на научную общественность, и через год, в 1923 году, Бантингу и Маклеоду была присуждена Нобелевская премия. Полученные части премии Бантинг поделил с Бестом, а Маклеод – с Коллипом, вклад которого в успешное выделение инсулина признавался коллегами. В 1934 г. король Великобритании Георг 5-й (King George V) присудил Бантингу рыцарское звание. В годы Первой мировой войны Бантинг был офицером медицинской службы, испытал газовую атаку и был ранен. Во время Второй мировой войны он погиб в 1942 г. при крушении перевозившего его самолета [3].

Примерно четыре года назад в Канаде отмечали 90-летний юбилей открытия инсулина. На праздновании юбилея с анализом вклада различных специалистов и воспоминаниями об этом выдающемся событии выступили известные ученые: Вайтсайд (Catharine Whiteside), Блисс (Michel Bliss), Фридман (Jeffrey Friedman), Вранич (Mladen Vranic), Диркс (John Dirks), Ротс (Jesse Roth), Кан (C. Ronald Cahn) и Фантус (I. George Fantus), Все участники единодушно признали, что честь открытия инсулина принадлежит четырём человекам – Бантингу, Бесту, Коллипу и Маклеоду, которые в разное время, были введены в Зал медицинской славы Канады (Canada's Medical Hall of Fame) [3].

Первые попытки лечения людей, страдавших СД, были выполнены путём введения инсулина, полученного из экстрактов поджелудочной железы животных. Инъекции инсулина приводили к снижению содержания сахара в крови и продлевали жизнь пациентов, однако вызывали возникновение серьёзных осложнений и побочных эффектов. Поскольку в первых исследованиях было показано, что введение экстрактов поджелудочной железы снижает уровень сахара, то на многие годы сформировалось глубокое убеждение, что главной функцией инсулина является регуляция углеводного обмена и поддержание стабильного уровня сахара крови путём стимуляции потребления углеводов тканями для выработки энергии.

При прекращении или торможении активации инсулином потребления глюкозы развивается СД с различными осложнениями. Поэтому главной задачей медицины в лечении СД стало поддержание нормального уровня глюкозы. Для этих целей были разработаны эффективные методы и медицинские препараты, позволяющие снижать сахар крови. Важным была разработка методов оценки эффективности регуляции инсулином углеводного обмена и вызываемого им снижения гипергликемии – тест на толерантность к глюкозе (ГТТ), тест на толерантность к инсулину (ИТТ) и гиперинсулинемический-эугликемический кламп (Hyperinsulinemic-euglicemic clamp), которые позволяли оценивать эффективность и надежность снижения инсулином концентрации глюкозы. Эти методы получили широкое распространение, признаны необходимыми при исследовании инсулина и СД, и используются практически во всех работах, проводимых на животных и человеке *in vivo*. Результаты проведенных исследований позволили сделать заключение, что главными мишенями действия инсулина являются мышцы, которые больше других органов потребляют глюкозу, а также жировая ткань и печень; и через воздействие на эти органы инсулин регулирует углеводный обмен.

Этапы изучения инсулина

Крупным прогрессом в изучении СД стало установление Сангером (Sanger) в 1953 г. химической структуры (аминокислотной последовательности) молекулы инсулина [4-7], за что ему также была присуждена Нобелевская премия. Позже предпринимались попытки получить инсулин путём прямого химического синтеза, которые не увенчались успехом из-за чрезвычайной трудности химического синтеза.

Современные достижения молекулярной биологии позволили разработать эффективные методы изучения нуклеотидных последовательностей генов, механизмов регуляции их экспрессии, переставлять гены и создавать искусственные генетические конструкции, способные индуцировать синтез белков высших животных и человека в простейших организмах. В результате были разработаны генно-инженерные продуценты, нарабатывающие инсулин и другие белки практически в неограниченном количестве, что позволило получать как природный инсулин, так и различные его искусственные аналоги, введение которых человеку лучше имитировало функционирование эндогенного инсулина и повышало эффективность лечения СД.

Исследования СД, проведенные многими учёными в течение 90 лет, позволили достигнуть выдающихся успехов, а супругам Кори (Gerty Cory and Carl Cory) и Сазерленду (Earl Sutherland) были присуждены Нобелевские премии. Однако в течение более 50 лет оставались непонятным, каким образом инсулин регулирует обмен веществ и поддерживает нормальный уровень сахара крови. Большим достижением в изучении этой проблемы стало открытие в 80-е годы прошлого века мембранных рецепторов в клетках, связываясь с которыми инсулин выполняет свою функцию. Были исследованы многие медиаторы, которые после связывания инсулина с рецептором

на поверхностной мембране клеток передавали гормональный сигнал в цитоплазму [3]. Это вселило надежду на скорое раскрытие и понимание механизмов регуляции инсулином обмена веществ, которые длительное время оставались загадкой.

Естественно, изучение рецепторов первоначально было сосредоточено на раскрытии роли инсулина в регуляции обмена веществ в мышцах, печени и жировой ткани. Совершенно неожиданно было обнаружено, что экспрессия гена *INSR*, кодирующего рецептор инсулина происходит не только в этих, но также в других органах, которые раньше не считались мишенями действия инсулина.

Интенсивное изучение инсулина показало, что его биологическое действие не ограничивается регуляцией углеводного обмена и поддержанием уровня сахара крови. Инсулин регулирует также жировой обмен и проявляет выраженное адипогенное действие, то есть способствует запасанию энергии в организме путем стимуляции продукции и отложения триглицеридов в жировых депо.

Адипогенное действие инсулина было прослежено уже в период эмбрионального развития. Заметные различия в скорости созревания β-клеток в эмбриогенезе наблюдаются у экспериментальных животных и человека. Секреция инсулина у грызунов начинается в эмбриогенезе на стадии E15,5; островки поджелудочной железы формируются к E18.5, а секреция инсулина возрастает в три раза в период между E18,5 и рождением. Ранний период постнатального развития характеризуется у грызунов возрастанием пролиферации β-клеток, и необходимая их масса накапливается к 3-4 неделе после рождения. У человека транскрипция *INS* начинается раньше (на 8 неделе беременности); кластеры β-клеток появляются на 12-16 неделях, а к 25 неделе формируются функционирующие островки, после чего секреция инсулина непрерывно возрастает [8]. Повреждение гена рецептора инсулина по-разному проявляется в эмбриогенезе человека и животных, и новорожденные заметно отличаются содержанием жировых запасов, которое у детей составляет 16%, а у животных только 2% общей массы тела [9]. Различие в содержании жировых запасов могло быть обусловлено тем, что полномерное функционирование инсулина у грызунов начинается лишь в перинатальном периоде, а у человека в последнем триместре беременности. Поэтому у людей инсулин раньше начинает проявлять адипогенное действие – ещё в период вынашивания плода, а у мышей – только после рождения, когда они практически не имеют жировых запасов.

Экспериментальные исследования на животных с нокаутом гена рецептора инсулина и генов других медиаторов, а также клинические исследования пациентов с мутациями в гене *INSR* продемонстрировали способность инсулина активировать накопления жировых запасов и проявлять другие эффекты, которые представлены в обзорах [10, 11]. Повреждение гена *INSR* по-разному проявляется в эмбриогенезе мышей и человека. Новорождённые мыши с нокаутом *Insr* практически не отличаются от помёта мышей дикого типа. Тогда как у новорождённых детей с дефицитом INSR развивается синдром Донаю (лепречуанизм) с серьезными изменениями фенотипа и практически полным отсутствием подкожной жировой ткани, или синдром Робсона-Менденхала с менее выраженной патологией. У мышей довольно быстро развивается гипергликемия и СД, а у человека, напротив, уровень сахара крови имеет тенденцию к снижению, что может быть обусловлено повышением потребления глюкозы тканями при дефиците в организме липидов в жировых депо (см. далее).

Большой объём исследований выполнен на экспериментальных животных с избирательным нокаутом гена рецептора инсулина (*INSR)* и генов других белков в отдельных органах и тканях с использованием системы Cre/LoxP и специфических промоторов, индуцирующих экспрессию отдельных генов преимущественно в изучаемом органе. К результатам таких исследований следует относиться с осторожностью, так как они основаны на использовании промоторов, которые активируют экспрессию определенных генов только в отдельных органах. Однако нет гарантии, что экспрессия изучаемых генов при использованием системы Cre/LoxP под действием избранного промотора блокируется только в одном органе и не нарушается в других частях тела, что усложняет анализ получаемых результатов.

Особый интерес представляло исследование действия инсулина на печени, которая является первым органом, воспринимающим действие эндогенного инсулина, поскольку секретируемый поджелудочной железой гормон, через портальную вену поступает непосредственно в печень. Вместе с инсулином в печень переходят низкомолекулярные продукты ферментативного расщепления белков и углеводов, а также хиломикроны – продукты липидного обмена и большое количество других гормонов, секретируемых в кровь желудочно-кишечным трактом и регулирующих разнообразные физиологические функции.

1. НОКАУТ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА (*INSR)* В ПЕЧЕНИ

Нокаут *INSR* в печени проведён с использованием Cre/LoxP и промотора гена альбумина, экспрессия которого проявляется в основном в печени [12]. Поскольку инсулин является анаболическим гормоном, он регулирует в печени синтез высокомолекулярных соединений – белков, включая апобелки, входящие в состав различных липопротеинов, триглицеридов, гликогена, аполипопротеинов очень низкой плотности (ЛОНП) и других соединений, используя в качестве субстратов глюкозу, аминокислоты и другие продукты, поступающие с кровью из пищеварительного тракта. Чем эффективнее инсулин стимулирует синтез высокомолекулярных продуктов в печени, тем меньше низкомолекулярных соединений, включая глюкозу, поступает в общий круг кровообращения. Нарушение действия инсулина на печень индуцирует

гипергликемию, которую принято рассматривать как следствие активации гидролиза гликогена и возрастания глюконеогенеза в печени.

Уже первые исследования показали, что мыши с нокаутом *Insr* в печени (мыши LIRKO) нормально развиваются в эмбриогенезе, и при рождении не отличаются от помёта мышей дикого типа. Однако через 2 месяца после прекращения потребления молока матери они демонстрировали нарушение толерантности к глюкозе, стабильную гипергликемию, поскольку потребление глюкозы печенью для синтеза гликогена, триглицеридов и других соединений не активировалось инсулином. Мыши LIRKO демонстрировали также резкое (в 20 раз) увеличение инсулина крови и значительное (в 6 раз) компенсаторное возрастание массы β-клеток поджелудочной железы вместе с двукратным снижением концентрации триглицеридов и свободных жирных кислот [12], которое могло быть обусловлено торможением продукции этих веществ печенью вследствие нарушения активации инсулином синтеза триглицеридов и жирных кислот.

С возрастом у мышей LIRKO происходят существенные изменения в обмене веществ, и гипергликемия натощак нормализуется, а к 6-му месяцу сменяется гипогликемией вместе с восстановлением нормальной толерантности к глюкозе [12]. При этом концентрации триглицеридов и свободных жирных кислот не возрастали, оставаясь примерно в 2 раза ниже, чем у контрольных мышей. Снижение уровня глюкозы крови у мышей с нокаутом *Insr* в печени на поздних этапах жизни находит объяснение на основе постулата о важной адипогенной функции инсулина. При блокаде экспрессии гена рецептора инсулина в печени тормозится стимулируемая инсулином продукция жирных кислот и триглицеридов в составе ЛОНП, которые из печени поступают в кровь и распространяются по всему организму. Сниженный уровень липидов в тканях перестает вытеснять глюкозу из энергетического обмена, и при сохранении гена *Insr* в других органах повышается потребление ими глюкозы, что индуцирует гипогликемию.

Восстановление сигнализации инсулина в печени у мышей с нокаутом гена рецептора инсулина во всём теле было неспособно нормализовать функцию инсулина [13]. Поскольку действие инсулина восстанавливалось не полностью, у этих экспериментальных животных отмечена тенденция к снижению массы жировых запасов по сравнению с мышами дикого типа. Исследование особенностей действия инсулина на печень вынуждают признать, что лечение пациентов, страдающих СД, регулярными инъекциями инсулина не может в полной мере заменить функцию эндогенного инсулина. Экзогенный инсулин не весь сразу проходит через печень, и действует на нее как на другие органы, поэтому его эффекты отличаются от эффектов эндогенного инсулина, который, в первую очередь, действует на печень и только потом на другие органы.

В результате, при лечении пациентов с СД1 инъекциями инсулина часто развивается гипогликемия вследствие снижения у них жировых запасов, вызванного ослаблением адипогенного действия инсулина на все органы. Поскольку у пациентов снижается содержание липидов в организме, жирные кислоты перестают конкурировать с глюкозой в качестве субстратов выработки энергии. Поэтому после введения даже низких доз инсулина потребление глюкозы всеми тканями значительно превышает норму, что индуцирует чрезвычайное снижение уровня сахара в крови при лечении СД1 экзогенным инсулином.

У мышей LIRKO, у которых инсулин переставал действовать на метаболизм в печени, дефицит липидов в теле развивался постепенно, поскольку рецептор инсулина сохранялся в жировой ткани и в адипоцитах инсулин продолжал активировать синтез жирных кислот и триглицеридов из глюкозы и их отложение в жировых депо. Однако под действием многочисленных жиромобилизующих гормонов, жировые запасы постепенно расходовались, и при недостаточности их поступления в составе ЛОНП из печени развивался дефицит липидов в организме. Жирные кислоты переставали вытеснять глюкозу в качестве субстрата выработки энергии. Потребление глюкозы всеми органами у мышей LIRKO постепенно возрастало, что приводило сначала к снижению уровня сахара до нормы, а на поздних этапах индуцировало гипогликемию.

2. ИЗБИРАТЕЛЬНЫЙ НОКАУТ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА В МЫШЦАХ И/ИЛИ ЖИРОВОЙ ТКАНИ

Адипогенная функция инсулина показана также в исследованиях мышей с избирательным нокаутом гена *Insr* в мышцах (мыши MIRKO) [14]. У мышей MIRKO инсулин прекращал активировать потребление глюкозы мышцами, которые считаются главной мишенью действия инсулина, поскольку в нормальных условиях больше других тканей потребляют глюкозу. Однако мыши с нокаутом гена *Insr* в мышцах сохраняли нормальную толерантность к глюкозе, и концентрации глюкозы и инсулина в крови у них не превышали норму. Поскольку у мышей MIRKO сохранялась экспрессия *Insr* в печени и жировой ткани, эндогенный инсулин мог продолжать стимулировать потребление глюкозы этими органами, активировал её превращение в липиды и повышал отложение триглицеридов в жировых депо. Такое предположение подтверждается возрастанием у экспериментальных животных массы жировых запасов и увеличением уровня свободных жирных кислот и триглицеридов в крови, что указывает на активацию инсулином синтеза липидов в организме [14].

Адипогенная функция инсулина показана также при исследовании мышей с нокаутом *Insr* в жировой ткани (мыши FIRKO) [15]. У таких животных инсулин переставал действовать на жировую ткань, и адипоциты прекращали потреблять глюкозу и трансформировать её в триглицериды, в результате чего тормозилось накопление триглицеридов в жировых депо. Однако, такое торможение

не приводило к истощению жировых запасов, поскольку инсулин продолжал активировать продукцию печенью обогащённых триглицеридами ЛОНП. Они распространялись по всем органам, включая жировую ткань, поддерживали нормальный уровень жировых запасов и обеспечивали эффективное функционирование жировой ткани и секрецию гормонов адипоцитами. Ожирение у мышей не развивалось даже при чрезмерном потреблении жиров с пищей и других способах активации накопления жировых запасов. У них сохранялся нормальный объём жировых запасов, и увеличивалась продолжительность жизни [15] (см. рисунок, таблица).

3. НОКАУТ ГЕНА *INSR* В ДРУГИХ ОРГАНАХ

Система Cre/LoxP была использована также для нокаута гена *INSR* вне признанных органов-мишеней действия инсулина с целью изучения роли гормона в регуляции физиологических функций путём воздействия на другие органы. Заслуживает внимания нокаут гена рецептора инсулина в β-клетках поджелудочной железы, в которых в качестве активатора экспрессии Cre был использован промотор гена *Insr* мышей с получением мышей βiRKO [16]. У мышей с дефицитом рецептора инсулина в β-клетках отмечено исчезновение первой фазы активации

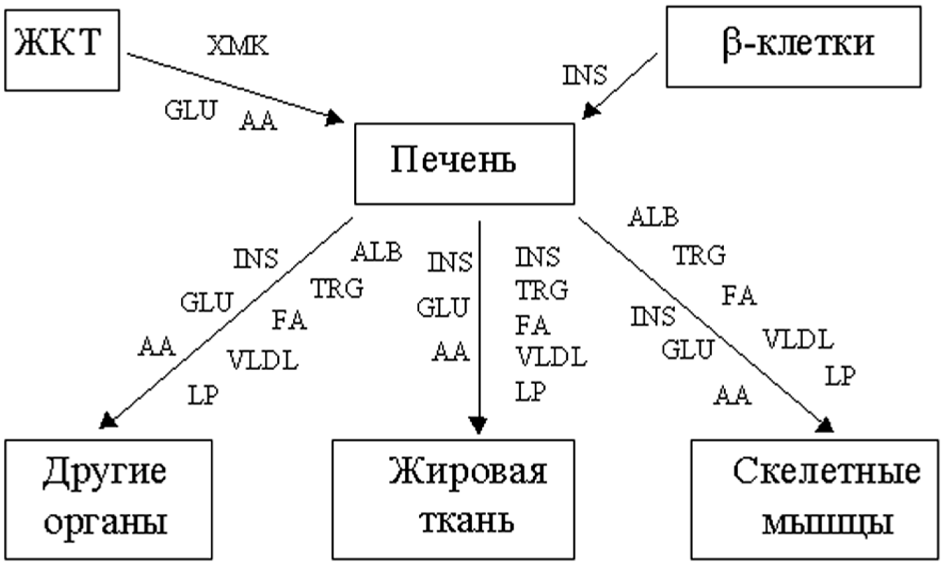

Рисунок. Последовательность действия инсулина на различные органы при регуляции общего метаболизма. Обозначения: INS - инсулин; GLU - глюкоза; ХМК - хиломикроны; ALB - альбумин; TRG - триглицериды; FA - жирные кислоты; AA - аминокислоты; VLDL -липопротеины очень низкой плотности (ЛОНП); LP - другие липопротеины. Стрелки указывают переносимые с кровью вещества из одного органа в другой.

Таблица. Нарушение функции инсулина при различных патологических состояниях.

Патологическое состояние или экспериментальное моделирование на животных	Проявления
Сахарный диабет первого типа у человека (СД1)	Гипергликемия, прекращение отложения жировых запасов
СД1 + инъекции инсулина	Частые гипогликемии
Мутации в гене рецептора инсулина (*INSR*) у человека	Истощение жировых запасов, гипогликемия
Нокаут гена *INSR* у мышей в печени	Гипергликемия → Нормогликемия → Гипогликемия → Гиперинсулинемия [12]
Нокаут гена *INSR* у мышей в жировой ткани	Жировые запасы в норме, торможение развития организма, увеличение продолжительности жизни [13]
Нокаут гена *INSR* в мышцах	Нормальный уровень сахара в крови, увеличение жировых запасов [14]
Нокаут гена транспортера глюкозы 4 (*GLUT4*) у мышей в жировой ткани	Жировые запасы в норме, гипергликемия [21]
Нокаут гена *GLUT4* у мышей в мышцах	Гипергликемия, снижение жировых запасов [22]
Совместный нокаут гена *GLUT4* у мышей в мышцах и жировой ткани	Жировые запасы в норме, увеличение в 4 раза синтеза триглицеридов из глюкозы в печени, переключение мышц с потребления глюкозы на использование липидов в качестве субстрата выработки энергии, гипергликемия не компенсируется инъекциями инсулина [23]
Микроинъекции инсулина мышам в мозг	Повышение в жировой ткани липогенеза и торможение липолиза с развитием ожирения [28]

секреции инсулина под действием глюкозы; при этом животные нормально реагировали увеличением секреции гормона на введение аминокислот, а через 6 месяцев у них ещё больше нарушалась толерантность к глюкозе, что обычно наблюдается у человека при прогрессировании СД2.

В других экспериментах был проведён сочетанный нокаут *Insr* в β-клетках и в печени (мыши β-iRKO/LIRKO). В отличие от мышей LIRKO, у которых увеличивалась масса β-клеток, и несмотря на резистентность к инсулину, не развивался СД2 (из-за значительного увеличения инсулина в крови, компенсировавшего возникающую к нему резистентность), у мышей β-iRKO/LIRKO масса β-клеток не возрастала, что могло быть обусловлено снижением действия инсулина на β-клетки. Любопытно, что торможение компенсаторного возрастания массы β-клеток и снижение секреции инсулина у мышей происходило вследствие нарушения действия на островковые клетки инсулина, а не инсулиноподобного фактора роста 1 (IGF1) [17], как можно было ожидать, поскольку в обычных условиях IGF1 активнее стимулирует пролиферацию клеток в тканях.

Определённый интерес представляют исследования мышей с нокаутом *Insr* в эндотелии кровеносных сосудов (мыши VENIRKO), поскольку нормальное функционирование кровеносной системы необходимо для проникновения инсулина в ткани, связывания с мембранным рецептором и эффективной регуляции физиологических функций. Хотя нокаут гена *Insr* в эндотелии индуцировал двукратное снижение экспрессии генов NO-синтазы и эндотелина-1, у животных не было обнаружено особых нарушений кровеносной системы. Они нормально росли, сохраняли фертильность и проявляли лишь незначительное снижение артериального давления при изменении объема потребляемой соли [18]. Когда же нокаут *Insr* в эндотелии сочетался с полным отсутствием аполипопротеина Е, который входит в состав липопротеинов высокой плотности (ЛВП) и ЛОНП, были получены другие результаты.

По чувствительности к инсулину, толерантности к глюкозе, уровню липидов плазмы и кровяному давлению мыши с полным отсутствием аполипопротеина Е не отличались от мышей с нокаутом *Insr* в эндотелии. Однако когда эти два дефекта сочетались, размер атеросклеротического поражения сосудов увеличивался вдвое, нарушалось расширение сосудов под действием эндотелина-1, и в 4 раза возрастала экспрессия гена VCAM-1, который кодирует молекулу адгезии сосудистого эндотелия 1 типа (vascular cell adhesion molecule-1), активирующую процессы воспаления [19]. Можно предположить, что одновременный дефицит INSR в эндотелии и апо-Е во всем теле тормозило потребление липопротеинов тканями и задерживало их в циркуляции. Анализ особенностей механизмов действия инсулина на сердечнососудистую систему, основанный на результатах исследования животных с избирательным нокаутом гена рецептора инсулина в отдельных органах, представлен в обзоре [20].

4. НОКАУТ ГЕНА ТРАНСПОРТЕРА ГЛЮКОЗЫ *GLUT4*

Транспортер глюкозы 4 типа (GLUT4) считается важным проводником активации инсулином потребления глюкозы мышцами и жировой тканью. Мыши с гетерозиготным нокаутом гена GLUT4 во всём теле демонстрировали лишь умеренное нарушение толерантности к глюкозе, а у мышей с полным нокаутом этого гена выявлены лёгкое нарушение гомеостаза глюкозы, задержка роста, снижение жировых запасов, гипертрофия сердца и сокращение продолжительности жизни [21]. При анализе результатов таких исследований необходимо учитывать, что при дефиците GLUT4, рецептор инсулина сохраняется во всём теле, и инсулин продолжает регулировать обмен веществ в организме, за исключением потери способности активировать встраивание транспортера глюкозы GLUT4 в мембрану клеток. Это могло нарушать снабжение энергией основных органов (вследствие снижения потребления ими глюкозы) индуцировало компенсаторную гипертрофию сердца и сокращало продолжительность жизни, при недостаточной выработки энергии и дефиците глюкозы в тканях.

Избирательный нокаут гена GLUT4 в жировой ткани блокировал стимуляцию инсулином потребления глюкозы адипоцитами, и, несмотря на сохранение GLUT4 в других органах, у них развивалась резистентность к действию инсулина, но поддерживался нормальный рост тела и объём жировых запасов [21]. При торможении потребления глюкозы адипоцитами можно было ожидать истощение жировых запасов, но этого не происходило. Рецептор инсулина сохранялся в печени и жировой ткани, инсулин мог способствовать продукции печенью обогащенных триглицеридами ЛОНП, и поддерживать нормальный уровень жировых запасов. Это указывало на необязательность присутствия глюкозы в жировой ткани для умеренной стимуляции инсулином накопления триглицеридов в жировых депо вследствие увеличения их продукции печенью, но, вероятно, было необходимо для чрезмерной активации инсулином синтеза триглицеридов в адипоцитах и индукции ожирения. Нокаут гена GLUT4 в мышцах сочетался со значительным снижением транспорта глюкозы в ткани, которое не компенсировалось экзогенным инсулином и другими стимулами [22]. При торможении потребления мышцами глюкоза можно было ожидать возрастание её потребления жировой тканью, в которой сохранялся GLUT4, что могло способствовать её трансформации в липиды и увеличивать жировые запасы. Однако объём жировых запасов у таких мышей не возрастал, а снижался, что могло быть связано со значительным возрастанием потребления липидов мышцами, которые потеряли способность использовать глюкозу в энергетическом обмене.

Совместный нокаут гена GLUT4 в мышцах и жировой ткани (мыши AMG4KO) [23] вызывал такое же нарушение толерантности к глюкозе и повышение уровня инсулина плазмы как и у мышей с дефицитом GLUT4 только в мышцах или только

в жировой ткани. Они имели нормальные вес и содержание жиров в теле, но гипергликемия натощак у них не компенсировалась введением экзогенного инсулина. Потребление глюкозы тканями было снижено, а синтез триглицеридов в печени возрастал, поскольку глюкоза накапливалась в тканях, и инсулин мог более активно стимулировать потребление глюкозы печенью, и её трансформацию в триглицериды. Включение меченой воды и меченой глюкозы в триглицериды печени увеличивалось соответственно в 2 и 4 раза. При этом концентрация триглицеридов в сыворотке в составе ЛОНП имела тенденцию к повышению, что могло указывать на сохранение адипогенного действия инсулина в печени. При прекращении стимуляции инсулином потребления глюкозы мышцами и жировой тканью вследствие дефицита в них транспортера глюкозы GLUT4, избыток глюкозы мог поступать в печень, где трансформировался в ЛОНП с высоким содержанием триглицеридов, и поддерживал нормальный объём жировых запасов. А мышцы переключались на использование липидов вместо глюкозы в качестве субстратов выработки энергии [23], что обеспечивалось возрастанием под действием инсулина продукцией печенью триглицеридов.

5. КОНКУРЕНЦИЯ ГЛЮКОЗЫ И ЖИРНЫХ КИСЛОТ В КАЧЕСТВЕ СУБСТРАТОВ НАРАБОТКИ ЭНЕРГИИ

Вопрос о механизмах взаимосвязи адипогенного действия инсулина и вызываемого им снижения уровня глюкозы представляет несомненный интерес, но пока не находит удовлетворительного объяснения. Естественным является предположение, что при нарушении адипогенной функции инсулина и торможении отложения триглицеридов и других липидов в жировых депо, свободные жирные кислоты и другие продукты липидного обмена накапливаются в других органах и тормозят потребление глюкозы, индуцируя гипергликемию. Большое внимание этой проблеме уделял Randle, сформулировавший гипотезу о цикле глюкозы и жирных кислот, которая основывалась на существовании конкуренции между глюкозой и жирными кислотами в качестве субстратов окисления и наработки энергии [24]. Эта гипотеза основывалась на известных механизмах функционирования гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Она предполагала, что торможение жирными кислотами потребления глюкозы индуцируется избыточным накоплением в тканях глюкозо-6-фосфата (G-6-P), препятствующего использованию свободной глюкозы в обмене веществ. Однако более поздние исследования показали, что при возрастании уровня жирных кислот в циркуляции концентрация G-6-P в крови и в мышцах не повышается, а снижается. На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что жирные кислоты препятствуют потребление глюкозы не путём нарушения её обмена в тканях, а путём прямого торможения транспорта глюкозы в клетки, что, естественно, приводило к снижению продукции G-6-P [25]. Поскольку эти исследования проведены на человеке, то можно допустить, что жирные кислоты тормозили транспорт глюкозы в ткани не прямо, а после их превращения в короткие жирные кислоты, β-окси-, β-кето-бутираты и другие кетоновые тела, которые становились предпочтительными субстратами наработки энергии митохондриями, и вытесняли глюкозу из энергетического обмена. На основании этого можно предположить, что при различных формах СД гипогликемия развивается вследствие крайних нарушений основной адипогенной функции инсулина, и при резком снижении активации инсулином накопления триглицеридов в жировых депо, продукты их обмена задерживаются в тканях, тормозят потребление глюкозы, способствуя развитию СД1. При чрезмерном повышении адипогенной функции, вызванной значительным возрастанием уровня инсулина в крови, гормон интенсивнее стимулирует продукцию триглицеридов и других липидов, которые переполняют жировые депо, проникают в другие органы, где накапливаются продукты их обмена и индуцируют гипергликемию [26].

6. ИНСУЛИН И МОЗГ

Новым интересным органом-мишенью действия инсулина является головной мозг и, в частности, гипоталамус, где показана экспрессия *INSR* и синтез рецептора инсулина. У мышей с нокаутом *Insr* в мозге возрастало потребление пищи, увеличивались жировые запасы, повышался уровень триглицеридов при слабом возрастании концентрации инсулина в крови, и нарушалась репродуктивной функции, вследствие ухудшения секреции гипофизом лютеинизирующего гормона [27].

Микроинъекции мышам минимальных доз инсулина в 4 желудочек мозга (ICV) и медиобазальный гипоталамус (МВН) не влияли на уровень инсулина в общей циркуляции, но индуцировали такие же изменения в обмене липидов и индуцировали ожирение, сходное с ожирением, сочетающимся с возрастанием концентрации инсулина в периферической крови. Они тормозили гидролиз триглицеридов и активировали липогенез – биосинтез липидов и их накопление в жировой ткани. При этом снижалась продукция ферментов и других белков, ассоциированных с увеличением катаболизма жиров (антилиполитическое действие инсулина), и повышался уровень белков, активирующих синтез жирных кислот и триглицеридов – липогенный эффект. Проведённые исследования показали, что, воздействуя на гипоталамус, инсулин изменял обмен веществ в периферических тканях путём торможения активности симпатической нервной системы и снижения секреции норадреналина нервными окончаниями [28]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что низкие концентрации инсулина, воздействуя на мозг, оказывают такое же действие на обмен веществ, как высокие концентрации инсулина – на периферические органы, то есть стимулируют накопление жировых запасов в жировых депо и тормозят образование низкомолекулярных продуктов липидного обмена в периферических органах.

При анализе полученных результатов авторы исходили из общепринятой концепции, что главной функцией инсулина является регуляция углеводного обмена и поддержание нормальной концентрации глюкозы крови. Сегодня во всех исследованиях считается, что снижение способности инсулина проявлять гипогликемическое действие указывает на потерю чувствительности тканей к действию инсулина или резистентность к инсулину, хотя способность инсулина активировать липогенез и тормозить липолиз в жировой ткани при этом может сохраняться. Потеря способности инсулина активировать липогенез и тормозить липолиз путём воздействия на мозг, по мнению авторов, повышало продукцию глицерина и свободных жирных кислот (СЖК), которые, поступая в избытке в периферические органы, трансформировались в глюкозу и индуцировали гипергликемию [28]. При этом не рассматривался альтернативный вариант, что возрастание концентрации СЖК и глицерина в крови могло способствовать накоплению продуктов их обмена в периферических органах, где они, вступив в конкуренцию с глюкозой в качестве субстратов наработки энергии митохондриями, индуцировали гипергликемию.

Вероятно, в настоящее время возникает необходимость пересмотреть накопленные результаты исследования СД и механизмов действия инсулина под другим углом зрения – на основе постулата, что главной функцией инсулина является стимуляция накопления энергии в организме [29, 30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый анализ вынуждает сделать вывод, что лечение СД путём введения человеку экзогенного гормона не способно заменить функционирование эндогенного инсулина, который после его секреции поджелудочной железой весь поступает в печень, и, в первую очередь, действует именно на этот орган. А экзогенный инсулин действует на печень так же, как и на другие органы. Сегодня всеми признаётся, что главной функцией инсулина является регуляция углеводного обмена и поддержание глюкозы в крови на стабильном нормальном уровне. Эту функцию инсулин выполняет путём активации потребления глюкозы тканями. Однако, помимо гипогликемического действие исследованы другие эффекты инсулина (см. выше), тем не менее, регуляция углеводного обмена считается главной, а другие эффекты воспринимаются как вторичные – сопутствующие основной функции этого гормона. Исходный постулат о том, что инсулин регулирует в основном углеводный обмен, никогда не подвергался сомнению, несмотря на большое количество новых данных о других эффектах гормона.

Возможно, наступает необходимость пересмотреть сложившиеся представления о механизмах действия инсулина на основе альтернативного постулата, что главной функцией инсулина является стимуляция накопления энергии в организме в форме гликогена в мышцах и печени, и триглицеридов в жировых депо, которые необходимы и используется для проведения большой и продолжительной физической работы [29, 30]. Опираясь на сложившуюся сегодня ситуацию с изучением СД, можно постулировать, что провести такую работу в ближайшее время будет довольно трудно. Поскольку тогда нужно будет признать, что инсулин прямо углеводный обмен не регулирует, а гипергликемия при СД является побочным проявлением нарушения главной функции инсулина – стимуляции накопления энергии в форме триглицеридов в жировых депо. Попытка провести такой анализ была предпринята [26], но какое развитие она получит пока остается неясным.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Bunting F.G., Best C.H.* (1922) J. Lab. Clin. Med., **7**, 251-266.
2. *Banting F.G., Best C.H., Collip J.B. et al.* (1922) Trans. Assoc. Am. Physicians, **34**, 337-347.
3. *Roth J., Queresni S., Whitford I., Vranic M., Kahn C.R., Fantus G., Dirck J.H.* (2012) Diabetes Metab. Res. Rev., **28**, 293-304.
4. *Sanger F., Tuppy H.* (1951) Biochem. J., **49**, 463-481.
5. *Sanger F., Tuppy H.* (1951) Biochem. J., **49**, 481-490.
6. *Sanger F., Tompson E.O.P.* (1953) Biochem. J., **53**, 353-366.
7. *Sanger F., Tompson E.O.P.* (1953) Biochem. J., **53**, 366-374.
8. *Nandi A., Kitamura Y., Kahn C.R., Accili D.* (2003) Physiol. Rev., **84**, 623-647.
9. *Widdowson E.M.* (1950) Nature, **166**, 626-628.
10. *Kahn C.R.* (2003) Experimental Diab. Res., **4**, 169-182.
11. *Accili D.* (2004) Diabetes, **53**, 1633-1642.
12. *Michaek M.D., Kulkarni R.N., Postic C., Previs S.F., Shulman G.I., Magnussen M.A., Kahn C.R.* (2000) Molecular. Cell., **6**, 87-97.
13. *Okamoto H., Obici S., Accili D., Rosetti L.* (2005) J. Clin. Invest., **115**, 1314-1322.
14. *Brüning J.C., Michael M.D., Winnay J.N., Hayashi T., Hörsch D., Accili D., Goodyear L.J., Kahn C.R.* (1998) Molecular Cell., **2**, 559-569.
15. *Blüher M., Michael M.D., Peroni O.D., Ueli K., Carter N., Kahn B.B., Kahn C.R.* (2002) Cell, **3**, 25-38.
16. *Kulkarni R.N., Brüning J.C., Winnay J.N., Postic C., Madnuson M.A., Kahn C.R.* (1999) Cell, **96**, 329-339.
17. *Okada T., Liew C.W., Hu J., Hinault C., Michael M.D., Krützfedt J., Yin C., Holzenberger M., Stoffel M., Kulkarni R.* (2007) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **104**, 8977-8982.
18. *Vicent D., Ilany J., Kondo T., Naruse K., Fisher S.J., Kisanuki Y.Y., Bursell S., Yanagisawa M., King GL., Kahn C.R.* (2003) J. Clin. Invest., **111**, 1373-1380.
19. *Rask-Madsen C., Li Q., Freund B., Feather D., Abramov R., Wu I.-H., Chen K., Yamamoto-Hiraoka J., Goldenbogen J., Sotiropoulos K.B. et al.*(2010) Cell Metab., **11**, 379-389.
20. *Rask-Madsen C., Kahn C.R.* (2012) Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., **32**, 2052-2059.
21. *Abel E.D., Peroni O., Kim J.K., Kim Y.B., Boss O., Hadro E., Minnemann T., Shulman G.I., Kahn B.B.* (2001) Nature, **409**, 729-733.
22. *Zisman A., Peroni O.D., Abel E.D., Michael M.D., Mauvais-Jarvis F., Lowell B.B., Wojtaszewski J.F., Hirshman M.F., Virkamaki A., Goodyear L.J., Kahn C.R., Kahn B.B.* (2000) Nat. Med., **6**, 924-928.
23. *Konani K., Peroni O.D., Minokoshi Y., Boss O., Khan B.B.* (2004) J. Clin. Invest., **114**, 1666-1675.

24. *Randle P.J.* (1998) Diabetes Metab. Rev., **14**, 263-283.
25. *Roden M.* (2004) News Physiol. Sci., **19**, 92-96.
26. *Панков Ю.А.* (2013) Мол. биология, **47**, 891-899.
27. *Brüning J.C., Gautam D., Burks D.J., Gillette J., Schubert M., Orban P.C., Klein R., Krone W., Müller-Wieland M., Kahn C.R.* (2000) Science, **289**, 2122-2125.
28. *Scherer T., O'Hare J., Diggs-Andrews K., Schweiger M., Cheng B., Lindtner C., Zielinski E., WempatiP., Su K., Dighe S. et al.* (2011) Cell Metab., **13**, 183-194.
29. *Тимов В.Н.* (2005) Вестник РАМН, №2, 3-8.
30. *Тимов В.Н.* (2012) Клин. лаб. диагн., №5, 3-12.

Поступила: 11. 09. 2015.
Принята к печати: 15. 12. 2015.

ADIPOGENIC FUNCTION AND OTHER BIOLOGIC EFFECTS OF INSULIN

Y.A. Pankov

Endocrinology Research Centre,
1 Moskvorechye str., Moscow, 115478 Russia

Studies on experimental animals with knockout of the insulin receptor gene *Insr* (in the whole body or in certain tissues) and/or related genes encoding proteins involved in realization of insulin signal transduction in target cells, have made an important contribution to the elucidation of insulin regulation of metabolism, particularly fat metabolism. Since the whole insulin secreted by β-cells, together with the products of gastrointestinal tract digestion of proteins, fats, and carbohydrates reach the liver, the latter is the first organ on which this hormone acts. The liver employs released amino acids for synthesis of proteins, including apoproteins for various lipoproteins. Glucose is used for synthesis of glycogen, fatty acids, and triglycerides, which enter all the organs in very low density lipoproteins (VLDL). The LIRKO mice with knockout of the *Insr* gene in the liver demonstrated inhibition of synthesis of macromolecular compounds from amino acids, glucose, and fatty acids. Low molecular weight substances demonstrated increased entry to circulation, and together with other disorders induced hyperglycemia. In LIRKO mice blood glucose levels and glucose tolerance demonstrated time-dependent normalization and at later stages the increase in glucose levels was replaced by hypoglycemia. These changes can be well explained if we take into consideration that one of the main functions of insulin consists in stimulation of energy accumulation by means of activation of triglyceride deposition in adipose tissue. FIRKO mice with selective knockout of adipose tissue *Insr* were characterized by decreased uptake of glucose in adipocytes, and its transformation into lipids. However, the level of body fat in animals remained normal, possibly due to preserved insulin receptor in the liver and insulin-induced activation of triglyceride production which maintained normal levels of body fat stores, the effective functioning of adipose tissue and secretion of leptin by adipocytes during inhibition of glucose transformation into triglyceride in adipose tissue. Knockout of the *Insr* gene in muscles blocked glucose uptake by myocytes, but it did not induce hyperglycemia, probably due to the increase in glucose uptake by other organs, which retained the insulin receptor, and induced some increase in fat resources in adipose tissue. Similar results were obtained in mice with knockout the glucose transporter 4 *GLUT4* in muscle and/or adipose tissue. Insulin microinjections in the brain, in the cerebral ventricle 4 (ICV) and mediobasal hypothalamus (MBH) did not affect the insulin levels in the general circulation, but effectively activated lipogenesis and inhibited lipolysis in adipose tissue. They induced obesity, similar to conventional obesity when the insulin levels increased. These results may serve as additional evidence for importance of the adipogenic insulin function in mechanisms of regulation of general metabolism.

Key words: hyperglycemia, fatty acids, triglycerides, obesity, diabetes, insulin receptor, gene, knockout of gene