

# Рецепция и внутриклеточные механизмы действия инсулина (часть 1)

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

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.

**Ключевые слова:** рецепторы инсулина, субстраты рецептора инсулина, сигнальные пути инсулина, инсулино-резистентность.

## Введение

Около четырех десятилетий назад были описаны первые схемы гормон-рецепторного взаимодействия и последующих внутриклеточных событий. В той области, которая впоследствии стала называться «молекулярной эндокринологией», усилиями ряда ученых, прежде всего группы Сазерленда, была сформулирована концепция вторичных мессенджеров, опосредующих действие гормонов. Гормон, воздействуя на рецептор, локализованный на клеточной поверхности, вызывает его активацию, которая влечет за собой усиление выработки аденилатциклазой циклического АМР (сАМР) из АТР. Этот циклический нуклеотид является специфическим активатором протеинкиназ, впоследствии обособленных в группу А (РКА). РКА

фосфорилируют клеточные белки по остаткам серина. Мессенджерная функция сАМР является следствием уникальности химического строения его молекулы, активности в очень низких концентрациях, высокой скорости образования и распада в клетке, тонкой системы регуляции его синтеза и высокой специфичности действия. Фосфорилирование клеточных белков, как вскоре выяснилось, является универсальным инструментом реализации регуляторных сигналов гормонов и прочих биорегуляторов как путем регуляции активности ферментов в клетке, так и на уровне транскрипции различных генов. Позже выяснилось, что функция сАМР в опосредовании действия гормонов является лишь частным случаем в огромном многообразии подобных механизмов. В то же время принципы, заложенные Сазерлендом в теорию вторичных мессенджеров, действительно оказались универсальными. Для того, чтобы гормон или иной

\* 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.vt@gmail.com

## Огляди

биорегулятор подействовали на клетку, необходим специальный механизм переноса сигнала с рецептора внутрь клетки и его усиления, необходимы специальные сигнальные молекулы, протеинкиназы, истинный масштаб роли которых в клетке только в последние два десятилетия был оценен в полной мере.

Инсулин является одним из анаболических гормонов, обеспечивающих нормальный метаболизм, энергетический баланс и контролирующих вес организма. Его можно назвать «хранителем» питательных веществ для организма, и секретируется он в ответ на повышение уровня глюкозы после приема пищи. Инсулин регулирует энергетический баланс, ингибируя образование глюкозы печенью и усиливая ее поглощение мышцами и жировой тканью. При этом сахар переводится в «хранилище» в виде гликогена в печени, мышцах и адипоцитах. Кроме того, инсулин стимулирует липогенез, синтез гликогена, белка и ДНК, усиливает поглощение клетками аминокислот, экспрессию генов и работу  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -насоса. Одновременно инсулин подавляет глюконеогенез, липолиз, апоптоз и аутофагию [1]. Недостаток гормона или устойчивость к его действию приводят к таким метаболическим дисфункциям, как диабет первого или второго типов, занимающим лидирующее положение среди болезней в Европе и США. Поэтому исследованию эффектов инсулина — как митогенных, так и метаболических — уделяется большое внимание [2].

Действие инсулина опосредуется тремя основными сигнальными системами, в состав которых входит большое число регуляторных факторов — PI3K/Akt; Ras/MAPK и Cbl/CAP [3]. На **рис. 1** приведены в обобщенном виде основные типы клеточных рецепторов, взаимодействующих с инсулином, триггерные механизмы, обеспечивающие передачу информации с активированного рецептора и ее перевод на «язык» внутриклеточных сигналов, основные типы сигнальных и адаптерных молекул, общий характер изменений физиологического состояния клетки, вызываемых всеми этими сигнальными процессами под влиянием инсулина.

Анализ результатов исследований с использованием подходов молекулярной эндокринологии и клеточной биохимии все больше убеждает нас в том, что все рецепторы, экспрессируемые в клетках, как и их агонисты, объединяются

в группы, основанные на эволюционном родстве кодирующих их генов. Как правило, генетически родственные рецепторы используют однотипные внутриклеточные сигнальные системы. Очень важным принципом является то, что любой рецептор для переноса сигнала своего агониста использует не одну сигнальную цепь или каскад, а скорее сеть сигнальных путей.

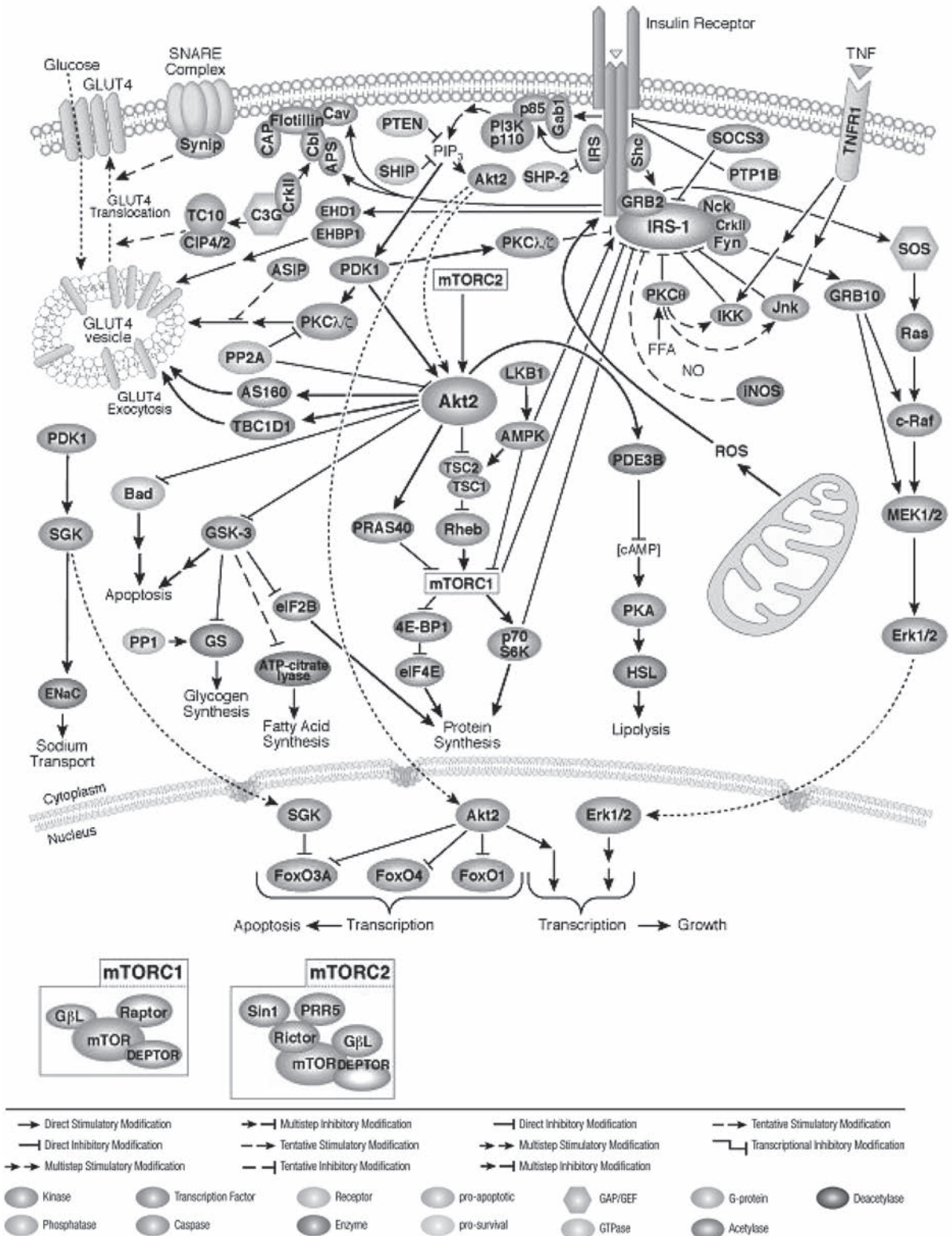
Таким образом, интерпретация действия любого гормона внутри клетки представляет собой специфическую пространственно-временную конфигурацию включения и выключения, связывания-диссоциации, синтеза-распада, фосфорилирования-дефосфорилирования и т.д. компонентов данной сети [4-6]. Важнейшими модификациями регуляторных белков являются также их метилирование, ацетилирование, фарнезилирование, изомеризация по пролину. Работа таких сетей является сложнейшим процессом не только с точки зрения химических и физико-химических процессов, протекающих при этом, но и с точки зрения проходящих информационных потоков, в чем-то сходных с компьютерными сетями.

#### Рецепторы с доменами тирозинкиназы

Действие инсулина на клетки-мишени начинается с его связывания со специфическими белками, относящимися к большой группе использующих общий принцип приема сигнала мембранных рецепторов — тирозинкиназных рецепторов [4, 7].

С этими рецепторами связан ряд кардинальных открытий: 1) нового класса протеинкиназ, способных фосфорилировать белки по гидроксильным группам тирозина, а не только серина или треонина; 2) новых механизмов активации рецепторов — аутофосфорилирования по остаткам тирозина в ответ на связывание рецептором агониста и димеризации молекулы рецептора как этапа ее активации. Открытие этих механизмов положило начало новой эпохе в изучении молекулярных основ клеточной регуляции и, в особенности, молекулярных механизмов онкологической трансформации клеток, поскольку стало ясно, что многие онкогены кодируют именно тирозинкиназы (ТК). Инсулин является одним из наиболее известных агонистов ТК-рецепторов [1, 4, 8].

Подсемейство рецептора инсулина, которое включает рецептор инсулина, рецептор IGF-1 (связывает инсулиноподобные факторы ро-



**Рис. 1.** Схема внутриклеточного переноса сигнала инсулина в клетках-мишенях (с разрешения www.cellsignal.com):

▼ — инсулин; IRS — субстрат инсулинового рецептора; Ras, c-Raf, MEK, ERK — GTP-аза и протеинкиназы, передающие пролиферативные сигналы в клетке; p110 — каталитическая, p85 — регуляторная субъединицы фосфатидинозитол-3-киназы (PI3K); PDK1 — фосфоинозитидзависимая киназа; Akt — протеинкиназа B; PKC $\zeta$  — атипичные протеинкиназы C; GSK-3 $\beta$  — киназа гликогенсинтазы-3 $\beta$ ; PDE3 — фосфодиэстераза-3; PKA — протеинкиназа A; Bad — проапоптотический фактор; FOXO — факторы транскрипции, регулирующие экспрессию генов ферментов глюконеогенеза; GLUT-4 — мембранный белковый переносчик глюкозы (остальные обозначения — в тексте).

## Огляди

ста I/II) и рецепторы, связанные с инсулиновыми орфан-рецепторами (IRRR), является исключением в надсемействе RTK, поскольку они существуют как дисульфид-ковалентно-связанные димеры с низкой базальной киназной активностью в отсутствие лиганда. Это предполагает, что активация предварительно сформированного димера является более вероятной моделью для семейства. При активации лигандом димеризованной RTK киназные домены контактируют и активируются путем трансфосфорилирования, что приводит к модификации специфических остатков тирозина во внутриклеточной части рецептора вне киназного домена. Эти фосфорилированные остатки становятся сайтами связывания для сигнальных белков-партнеров, которые содержат домены SH2 (Src homology 2), также фосфорилируются киназой или активируются конформационными изменениями и инициируют каскад трансдукции внутриклеточного сигнала [1, 9, 10]. Фосфорилирование нескольких остатков тирозина в молекуле рецептора является очень важным моментом, поскольку каждый модифицированный тирозин может давать начало отдельному пути переноса сигнала, а следовательно, сигнал с активированного рецептора может передаваться сразу по нескольким каналам. Кроме того, фосфорилирование одного тирозина может влиять на перенос сигнала с другого фосфотирозина. Данный случай является хорошей иллюстрацией к одному из важных моментов внутриклеточных механизмов действия гормонов — наличию трансрегуляторных («cross-talking») связей между различными сигнальными путями, которые играют важную роль в интегральной клеточной регуляции. Именно за счет одновременного использования различных путей переноса сигнала и трансрегуляторных связей между ними, представляющих собой разветвленную сеть, внутриклеточная система гормональной регуляции и обладает той гибкостью, которая характерна для функционирования нативной клетки.

### Рецепторы инсулина

Инсулиновый ТК-рецептор (IR) представляет собой гликированный, объединенный дисульфидными связями гетеротетрамер, состоящий из двух  $\alpha$ - (полностью внеклеточных) и двух  $\beta$ -субъединиц, пронизывающих мембрану. Альфа-цепь (731 аминокислотный остаток) содержит инсулин-связывающие де-

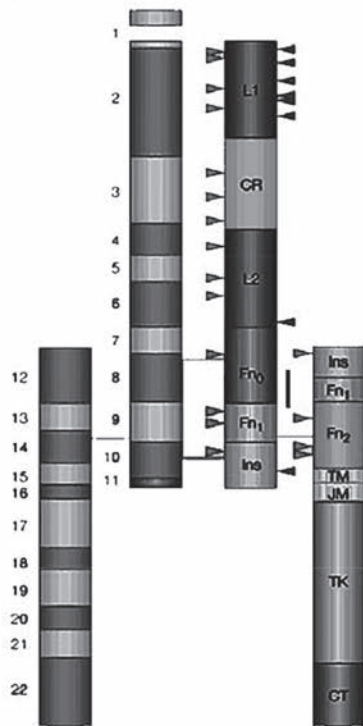
терминанты, а внутриклеточная часть  $\beta$ -цепи (620 аминокислот) включает ТК-домен и домены взаимодействия с факторами трансдукции сигнала. Рецептор кодируется геном с 22 экзонами, 21 интроном и существует в виде 2 изоформ, которые отличаются отсутствием (IR-A) или присутствием (IR-B) 12 аминокислот на С-конце  $\alpha$ -субъединицы в результате альтернативного сплайсинга последовательности, кодируемой 11-м экзоном (рис. 2) [1, 2]. Изоформа В связывает IGF с по меньшей мере в 100 раз меньшей аффинностью, чем инсулин. IR-A преимущественно экспрессируется в тканях плода и в головном мозге, обладает большей аффинностью, чем IR-B для инсулина, IGF-I и, особенно, IGF-2, характеризуется большей скоростью интернализации, чем изоформа В типа, и имеет тенденцию к ап-регулированию в опухолях [11].

Рецепторы синтезируются в виде одноцепочечных пре-прорецепторов, которые процессируются фуриноподобным протеолитическим ферментом, гликируются, складываются и димеризуются, образуя зрелый рецептор  $\alpha\beta_2$ . В клетках, экспрессирующих как рецепторы инсулина, так и IGF-I, образуются гибридные рецепторы, состоящие из половины каждого. Их физиологическая роль пока неизвестна [1].

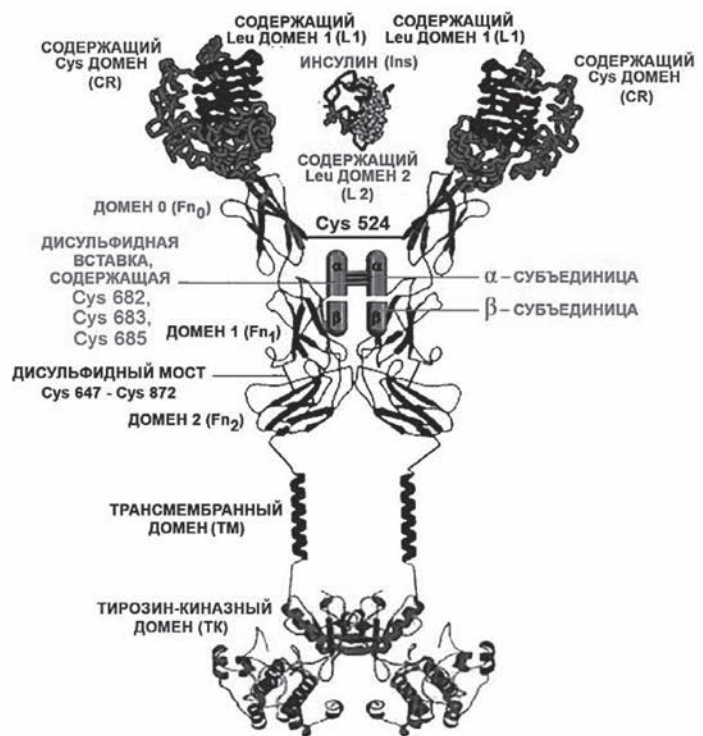
Структура эктодомена IR объясняет многие особенности связывания лиганда (рис. 2). Он содержит 2 больших гомологичных домена — L1 (аминокислотные остатки 1-157) и L2 (311-470), разделенных богатым цистеином доменом CR — аминокислоты 158-310. Ближе к С-концу от этих доменов расположены 3 фибронектиновых домена III типа (FnIII-1, -2, -3) — аминокислотные остатки 471-595, 596-808 и 809-906 соответственно. FnIII-2 включает вставку (аминокислоты 638-756), которая содержит сайт разрезания  $\alpha/\beta$ -цепей [2]. IR эктодомен содержит одну дисульфидную связь между  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепями, соединяющую цистеиновые остатки Cys647 и Cys872. Кроме того, существуют  $\alpha$ - $\alpha$  дисульфидные связи в Cys524 в домене FnIII-1 и между триплетом Cys682-Cys683 и Cys685 во вставном домене. Эктодомен находится в сложенной конформации на клеточной мембране. При этом два полурецептора расположены антипараллельно и формируют лиганд-связывающий карман [12]. Рецептор обладает четырьмя сайтами связывания лиганда и по конфигурации напоминает перевернутую V, вершину которой формируют L2



## СТРУКТУРА ГЕНА РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА



## СТРОЕНИЕ РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА



**Рис. 2.** Модульная структура  $\alpha 2\beta 2$  рецептора инсулина: в левой половине рецептора расположены участки из последовательностей 22 экзонов и 21 интрона, в правой — участки предсказанных модулей белка; границы модулей в основном соответствуют границам экзонов; L1 и L2 — большие домены 1 и 2 (богатые лейцином повторы); CR — богатый цистеином домен; FnIII-1, FnIII-2, FnIII-3 — домены фибронектина III; ID — вставка в FnIII-2; TM — трансмембранный домен; JM — околомембранный домен; ТК — домен тирозинкиназы; С — С-концевой хвост; черный прямоугольник около FnIII-1 — основной иммуногенный регион; красные стрелки — сайты N-гликирования; темные стрелки — связывающие лиганды «горячие точки», идентифицированные с помощью сайт-направленного мутагенеза с заменами одной аминокислоты; две  $\alpha$ -субъединицы связаны дисульфидной связью между двумя Cys524 в первом домене FnIII; от одного до трех триплетных Cys при 682, 683 и 685 во вставке во втором домене FnIII также участвуют в  $\alpha$ - $\alpha$  дисульфидных мостиках; существует один дисульфидный мостик между  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединицами между Cys647 в домене вставки и Cys 872 (номенклатура изоформы B); экзон 11 выделен [1].

и FnIII-1 домены от каждого мономера [13]. Каталитическая субъединица IR ( $\beta$ -субъединица), обладающая тирозинкиназной активностью, содержит короткий внеклеточный домен (О- и N-гликированный), трансмембранный домен (23 аминокислотных остатка) и большую внутриклеточную часть. В этой части имеется ряд остатков тирозина, подверженных фосфорилированию-дефосфорилированию. В позиции 1030 находится остаток лизина, входящий в каталитически активный АТФ-связывающий центр. Ниже области FnIII-3 в  $\beta$ -цепи находится трансмембранная спираль и околомембранная область, над внутриклеточным каталитическим тирозинкиназным доменом, фланкированным двумя регуляторными областями и ответственным за активацию внутриклеточных сигнальных путей, а также С-концевой участок [13]. Околомембранный участок стыкуется с суб-

стратами инсулиновых рецепторов (IRS)-1-6 и Shc, а также участвует в интернализации рецептора. IR человека содержит 18 вероятных сайтов гликирования — 14 на  $\alpha$ - и 4 на  $\beta$ -цепи. Рецептор IGF-I имеет аналогичную модульную организацию [1].

Интересно, что IGF-1R связан с усиленной активацией Shc и Gab-1 и генами, участвующими в пролиферации клеток, тогда как IR более эффективен в регулировании фосфорилирования IRS-1 и генов, участвующих в метаболических путях. Путем точно-мутационного и структурного моделирования была идентифицирована одна аминокислота в околомембранной области рецепторов, определяющая эти различия. Замена лейцина 973 IR на фенилаланин, который присутствует в IGF-1R, имитирует многие из сигналов IGF-1R и реакции экспрессии генов [14].

## Огляди

Изучение кристаллизованного лиганд-рецепторного комплекса сайта 1 показало, что вопреки предсказаниям инсулин ограниченно контактирует с доменом L1. Большинство остатков инсулина на сайте связывания 1 находятся в тесном контакте с доменом  $\alpha$ CT, за исключением Val B12 и Tyr B16, причем последние необходимы для высокоаффинного связывания. Подтверждена критическая роль некоторых С-концевых остатков (B24-B26) В-цепи инсулина в отношении аффинности связывания [15]. Получены доказательства того, что для связывания лиганда с высокой аффинностью необходим его контакт с обоими полурецепторами. Несмотря на димерную структуру рецептора, только одна молекула лиганда может осуществить все контакты, необходимые для высокоаффинного связывания, которое таким образом демонстрирует негативную кооперативность, что соответствует модели гармонического осциллятора [16]. В этой модели постулируется, что тетрада сайтов 1 и 2 на каждой  $\alpha$ -субъединице, расположенные антипараллельно, спонтанно осциллируют между открытой и замкнутой конформациями. Это дает возможность лиганду, связанному либо с сайтом 1, либо с сайтом 2, сшивать осциллятор, обеспечивая высокое сродство и замедляя скорость диссоциации. Альтернативное сшивание ко второму набору сайтов приведет к ускорению диссоциации лиганда от первой сшитой пары, что позволяет упростить количество задействованных промежуточных состояний [16].

Как и во всех киназах, тирозинкиназа инсулинового рецептора имеет две структурно различные доли, N-концевую и С-концевую, которые образуют каталитический сайт киназы, где АТР, ионы магния и тирозиновый остаток субстрата собираются вместе. Доли связаны линкерной областью, которая образует шарнир, позволяющий относительное движение долей. Структура обеспечивает новый механизм аутоингибирования, где активационная петля ведет себя как псевдосубстрат, блокируя активный сайт в базальном состоянии (закрытая конфигурация), и стабилизируется в открытом положении после трансфосфорилирования трех тирозинов. Позже было показано, что активированные киназы рецептора инсулина и IGF-I являются функциональными димерами, и что в дополнение к фосфорилированию активирующей петли происходит аллостерическая стаби-

лизация с обменом околосмембранных областей, близких к киназному домену [17].

Несмотря на значительный прогресс в исследовании структуры внеклеточных и киназных доменов рецепторов инсулина, структура свободных и связанных с лигандом рецепторов изучена недостаточно, и, соответственно, не хватает деталей точного механизма, посредством которого связывание внеклеточного лиганда приводит к сближению и активации доменов киназы. Предлагаются 4 модели активации, но они пока недостаточно подкреплены экспериментальными данными [1, 18-21].

Связывание инсулина с  $\alpha$ -субъединицей вызывает усиление киназной активности  $\beta$ -субъединицы, что, в свою очередь, инициирует ее аутофосфорилирование [9, 22]. Бета-субъединица фосфорилируется по остаткам тирозина: Tyr960, Tyr953, Tyr972 — в трансмембранном участке, Tyr1146, Tyr1150 и Tyr1151 — в регуляторном участке, а также Tyr1316 и Tyr1322 — в СООН-концевом участке. Показано, что аутофосфорилирование трех остатков тирозина в регуляторном участке стимулирует активность эффекторных протеинкиназ в 10-20 раз [10]. Фосфорилирование рецептора вне киназного домена создает сайты связывания для сигнальных белков-партнеров, содержащих SH2 или РТВ (фосфотирозин-связывающий) домены. В отличие от других RTK, рецепторы инсулина и IGF-I напрямую не контактируют с сигнальными белками, а связывается фосфорилированный остаток Tyr960 околосмембранного домена с семейством больших докинг-белков — IRS-1–IRS-6, а также с адаптером Shc. Они образуют ядро для сборки структуры по передаче сигнала, которая является стартовым центром различных внутриклеточных сигнальных каскадов. Аутофосфорилирование не только активирует внутриклеточные сигнальные механизмы, но и инициирует интернализацию лиганд-рецепторных комплексов, что приводит к диссоциации и деградации лиганда в системе эндосомы/лизосомы и инактивации, рециклиngu рецепторов. Есть, впрочем, данные, свидетельствующие об активной роли интернализированных рецепторов в сигнальных механизмах, связанных в первую очередь с митогенным каскадом Ras/MAPK [23]. По неподтвержденным пока сведениям, IR-сигнальные комплексы могут связываться со специфическими, инсулин-

индуцибельными участками генов [24]. Интернализированные рецепторы инактивируются фосфотирозин-специфическими фосфатазами, в частности PTP1B, локализованной на поверхности эндоплазматического ретикулума, обращенной к цитозолю. Кроме того, мембранный гликопротеин PC-1, представляющий собой эктонуклеотидпиروفосфатазу, и фосфодиэстераза связываются с IR- $\alpha$ -субъединицей, ингибируя активность ТК. Белки SOCS, индуцированные цитокинами, ингибируют фосфорилирование тирозина IRS, конкурируя за сайт связывания с IR. Активированная mTORC1 отрицательно регулирует сигналы инсулина [25], в то время как mTORC2 способствует активации IGF-IR/IR, фосфорилируя рецепторы по Tyr1131/1136 и Tyr1146/1151 [26].

### Субстраты IR

После активации рецептора адаптерные белки связываются с субстратами IR — IRS-1–IRS-6, важнейшими из которых являются IRS-1 и IRS-2 [3, 27, 28]. Хотя эти субстраты имеют сходные мотивы фосфорилирования тирозин-овых остатков, им свойственны разные функции *in vivo*. Активацию IRS-1 связывают с гомеостазом глюкозы, тогда как IRS-2 — с регуляцией метаболизма липидов, хотя механизм такой специфичности пока неясен [12]. Мыши с нокаутом IRS-1 демонстрируют замедление роста и нарушение действия инсулина, особенно в мышцах, но имеют нормальную толерантность к глюкозе. Мыши с нокаутом IRS-2 показывают снижение роста только в селективных тканях, таких как определенные типы нейронов и островковых клеток, но также характеризуются дефектным сигналингом инсулина в печени, который в сочетании с потерей  $\beta$ -клеток приводит к развитию диабета. На клеточном уровне преадипоциты IRS-1-/- обнаруживают дефекты в дифференцировке, тогда как преадипоциты IRS-2-/- обычно нормально дифференцируются, но характеризуются нарушением стимулированного инсулином переноса глюкозы [29]. В скелетных мышцах IRS-1 (но не IRS-2) необходим для дифференцировки миобластов и метаболизма глюкозы, тогда как IRS-2 имеет большое значение для метаболизма липидов и активации ERK [30].

Распределение IRS-3 и IRS-4 в тканях носит более ограниченный характер. У грызунов IRS-3 распространен в адипоцитах, печени и легких, тогда как у людей ген *IRS-3* является псевдоге-

ном, поэтому белок вообще не образуется. У мышей нокаут гена *IRS-3* не связан с аномалиями, но приводит к тяжелому дефекту в адипогенезе в сочетании с делецией *IRS-1*. мРНК *IRS-4* определяется в скелетных мышцах, печени, сердце, головном мозге и почках, а мыши с нокаутом *IRS-4* демонстрируют только минимальное замедление роста и непереносимость глюкозы. *IRS-5* (*DOK4*) и *IRS-6* (*DOK5*) ограниченно экспрессируются в тканях и являются относительно слабыми IR-субстратами [31].

В дополнение к белкам IRS рецепторы инсулина и IGF-1 могут фосфорилировать несколько других субстратов (рис. 1) [32]. Shc-белки содержат тирозин, фосфорилируемый IR и IGF-1R, и участвуют в активации пути Ras/ERK. Белки GAB (*Grb2-associated binder*) также являются субстратами для разных рецепторов, включая IR и IGF-1R. GAB-белки напоминают белки IRS, но не содержат домена тирозинфосфатазы (PTP) и могут играть роль в передаче сигналов инсулина/IGF-1 в клетках, экспрессирующих низкие уровни белка IRS. APS (*SHB2* — SH2 domain-containing adapter protein B) и Cbl являются субстратами IR/IGF-1R, которые мобилизуют другие белки, такие как Cbl-ассоциированный белок (CAP), в инсулин-сигнальный комплекс. Последний контролирует стимулированное инсулином поглощение глюкозы. SH2B1 (*SH2B adapter protein 1*) напрямую связывается с IR и IRS и усиливает чувствительность к инсулину, стимулируя каталитическую активность IR, а также путем ингибирования дефосфорилирования тирозина белков IRS [33].

Во взаимодействии рецептора с IRS принимают участие домены PTB и PH (*Pleckstrin homology domain*). IRS-2 дополнительно взаимодействует с доменом ТК-рецептора. Фосфорилирование тирозина IRS создает сайты связывания с белками, содержащими SH2-домен: с регуляторной субъединицей класса Ia PI3K, Grb2, а также с фосфатазой SHP2 и протеинкиназой Fyn из семейства Src. Фосфорилированные IRS являются платформой для распространения сигналов инсулина в клетке, которую он делит с другими рецепторными тирозинкиназами, такими как IGF-1R, сигнальная сеть которого практически неотличима от таковой инсулина [34].

Регуляция IRS-1 осуществляется путем фосфорилирования по многим (более 50) серин/

## Огляди

треониновым остаткам протеинкиназами, которые находятся в регуляторном ряду ниже PI3K: Akt/PKB, GSK-3 $\beta$ , mTOR, p70S6K, а также киназами других сигнальных путей: AMPK, атипичными PKC, SIK2, ROCK1, JNK, IKK $\beta$  [3, 35, 36]. Инсулиннезависимые киназы (AMPK, GSK3) могут фосфорилировать IRS1/2 в базальных условиях или в ответ на симпатическую активацию и липидные медиаторы воспаления, которые присутствуют в повышенных концентрациях при метаболических заболеваниях [36]. В целом такое фосфорилирование ингибирует функцию IRS-1, способствуя его деградации, ослаблению взаимодействия с IR или ассоциации с SH2-доменами, хотя фосфорилирование по некоторым специфическим сайтам может усиливать фосфорилирование некоторых специфических тирозиновых остатков и повышать чувствительность ткани к инсулину [37]. Фосфорилирование сериновых остатков IRS-2 изучено меньше, но, вероятно, является не менее сложным [38]. Обратимая модификация остатков серина и треонина IRS осуществляется путем гликирования — добавления O-N-ацетилгалактозамина, который влияет на уровень фосфорилирования, стабильность белка, его субклеточную локализацию и взаимодействие с другими белками [39]. Необходимо отметить, что устойчивость к инсулину при диабете 2-го типа также возникает вследствие фосфорилирования IRS указанными протеинкиназами, которые активируются провоспалительными цитокинами (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6), свободными жирными кислотами, лептином, адипонектином, эндотелином-1 и другими продуктами жировой ткани. Кроме того, длительное действие инсулина/mTORC1/p70S6K1 также приводит к деградации IRS [36].

**PI3K каскад**

Этот каскад является основным и опосредует следующие эффекты инсулина в клетках: стимуляцию синтеза белка и гликогена, а также липогенез *de novo* и ингибирование глюконеогенеза, липолиза, аутофагии и апоптоза [34].

PI3K состоит из двух субъединиц: p110 (каталитическая) и p85 (регуляторная). Как регуляторная, так и каталитическая субъединицы PI3K имеют несколько изоформ — p110 $\alpha$ , p110 $\beta$ , p110 $\delta$  и p85 $\alpha$ /p55 $\alpha$ /p50 $\alpha$ , p85 $\beta$ , p55 $\gamma$  соответственно. Несколькими исследователями показано, что в переносе сигнала инсулина задей-

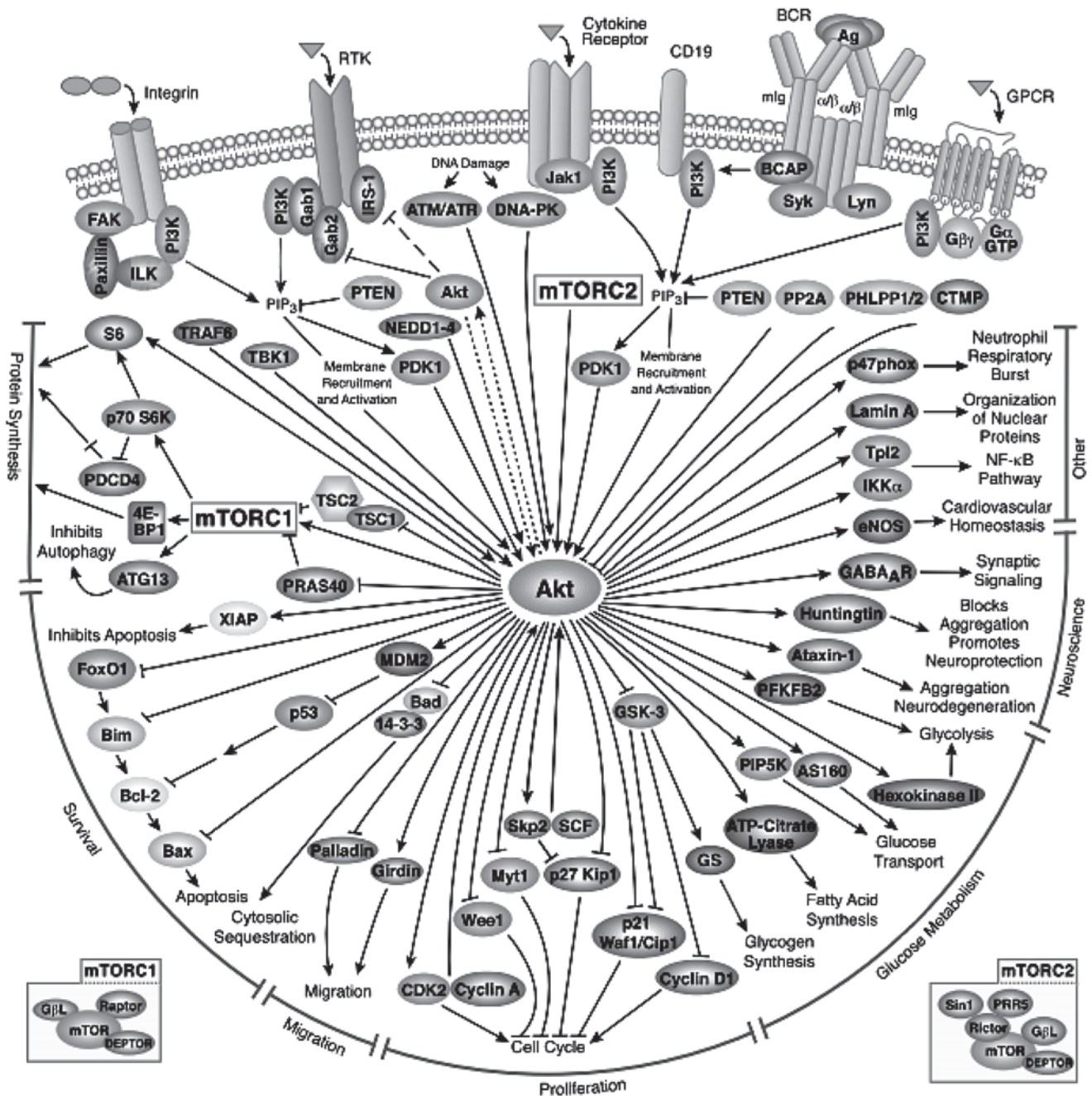
ствована в основном p110 $\alpha$  [40, 41]. Мутации в гене *PIK3R1*, кодирующем субъединицы p85 $\alpha$ /p55 $\alpha$ /p50 $\alpha$ , приводят к тяжелой инсулинорезистентности (ИР) и SHORT-синдрому [42]. Различные изоформы регуляторной субъединицы PI3K кодируются тремя различными генами. *PIK3R1* кодирует 65-75% всех регуляторных субъединиц, в основном в форме p85 $\alpha$ , а также сплайс-варианты p55 $\alpha$  и p50 $\alpha$ . *PIK3R2* кодирует p85 $\beta$ , которая составляет около 20% от регуляторных субъединиц. *PIK3R3* кодирует p55 $\gamma$ , которая по структуре сходна с p55 $\alpha$ , но экспрессируется на низком уровне в большинстве тканей [33].

Связывание регулятора с каталитической субъединицей повышает стабильность последней и поддерживает ее в ингибированном состоянии. Это состояние меняется после связывания регуляторной субъединицы со специфическими мотивами фосфотирозина в белках IRS, что приводит к ее активации [43, 44]. Аблиция p110 $\alpha$  и, в меньшей степени, p110 $\beta$  у мышей приводит к непереносимости глюкозы и резистентности к инсулину [41].

Под воздействием инсулина PI3K индуцирует активацию каскада серин/треониновых протеинкиназ (AGC), включающего фосфоинозитид-зависимую киназу-1 (PDK1), субстратом которой, в свою очередь, являются ключевая эффекторная киназа данного каскада — Akt (**рис. 3**), глюкокортикоид-индуцируемая протеинкиназа (SGK) и несколько изоформ PKC, в первую очередь атипичные протеинкиназы  $\lambda/\zeta/1$  [45].

Члены семейства киназ AGC имеют сходную структуру и механизмы активации посредством фосфорилирования сериновых и треониновых остатков [46]. PDK-1 представляет собой основную вышестоящую киназу, ответственную за фосфорилирование и активацию киназ AGC, контролируемых PI3K [47]. PDK-1 содержит домен PH, который связывается с мембраносвязанным PIP $_3$ , инициируя активацию PDK-1. PDK-1 фосфорилирует и активирует протеинкиназы AGC по остаткам серина/треонина, таким как Thr-308 для Akt. Однако для полной активации требуется фосфорилирование Akt по Ser-473, которое осуществляется mTORC2 [36, 48]. Активность Akt регулируется путем mTORC1-зависимого фосфорилирования и стабилизации Grb10 [49], который подавляет взаимодействие IRS с ключевым фос-





**Рис. 3.** Сигнальные пути основной эффекторной протеинкиназы сигнального каскада PI3K — Akt (cellsignal.com). Объяснения в тексте.

фотирозином IR; ингибированием mTORC2 через S6K1-опосредованное фосфорилирование Rictor и HIF1 $\alpha$ -опосредованное усиление транскрипции гена PTEN — фосфатазы, ингибирующей PI3K-каскад [36]. ДНК-зависимая протеинкиназа (DNA-PK) также фосфорилирует и активирует Akt в ответ на повреждение ДНК [50] и участвует в инсулинзависимой регуляции метаболических генов, таких как синтаза жирных кислот [51].

Мобилизация и активация PI3K зависит от связывания двух доменов SH2 в регуляторных субъединицах с фосфорилированными по тирозину белками IRS [28]. Это приводит к активации каталитической субъединицы, которая быстро фосфорилирует фосфатидинозитол-4,5-бисфосфат (PIP<sub>2</sub>), образуя второй липидный мессенджер — фосфатидинозитол-3,4,5-трифосфат (PIP<sub>3</sub>). Последний рекрутирует Akt на плазматическую мембрану, где она активирует-

## Огляди

ся фосфорилированием и трансдуцирует сигнал нижележащим факторам.

Семейство белков Akt состоит из трех различных изоформ, кодируемых различными генами [52]. Все изоформы содержат плектриновый домен (PH), позволяющий взаимодействовать с  $PIP_3$  и связываться с плазматической мембраной.

Основной изоформой, участвующей в передаче сигнала инсулина, является Akt2, которой обогащены ткани-мишени гормона [34]. Известно, что мыши с нокаутом Akt2 устойчивы к инсулину и развивают диабет, в отличие от мышей Akt1<sup>-/-</sup> и Akt3<sup>-/-</sup>. Хорошо изучены следующие субстраты Akt.

1. Киназа гликогенсинтазы-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) [53], регулирующая синтез гликогена (рис. 3) и активирующаяся в отсутствие ростовых факторов.
2. Rab-GTP-аза, которая активирует белок AS160/TBC1D4, контролирующий транспорт глюкозы. При мутациях гена *TBC1D4* снижается инсулинстимулированное поглощение глюкозы в мышцах, что приводит к гипергликемии после приема пищи, нарушенной толерантности к глюкозе и ИР [54].
3. Активируемый Rheb-GTP-азой комплекс TSC1/2 (tuberous sclerosis complex protein 2), регулирующий mTOR, которая контролирует p70S6 киназу (S6K) и белковый синтез (рис. 1 и 3). Активация mTORC1 также может достигаться путем фосфорилирования обогащенного пролином субстрата 40 кДа (PRAS40), ингибитора mTORC1, тем самым ослабляя ингибирование. Комплекс mTORC1 затем фосфорилирует и подавляет 4E-связывающий белок 1 (4E-BP1), активирует рибосомные S6-киназы S6K1/2 и SREBP1 (Sterol regulatory element-binding protein), что обеспечивает регуляцию сети генов, контролирующих метаболизм, синтез белка и рост клетки [55].
4. Факторы транскрипции FOXO (forkhead box protein O), влияющие на экспрессию генов ферментов глюконеогенеза, липогенеза, а также генов, контролирующих уровень проапоптотического белка Bad и апоптоз [12, 56, 57] (рис. 1 и 3). Akt фосфорилирует FOXO по нескольким сайтам, которые формируют докинг-сайты для связывания белков семейства 14-3-3. Это взаимодействие приводит к ис-

ключению FOXO из ядра, что блокирует его транскрипционную активность [58].

5. Akt-зависимое фосфорилирование PGC-1 $\alpha$  (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 $\alpha$ ) ослабляет способность последнего стимулировать глюконеогенез и окисление жирных кислот [59].
6. Фосфорилирование фосфодиэстеразы 3B (PDE3B) приводит к ее активации и снижению уровня cAMP, который играет важную роль в эффектах инсулина относительно ингибирования липолиза в адипоцитах и в его секреции  $\beta$ -клетками [60].

Akt играет центральную роль в опосредовании многих других эффектов инсулина, регулируя экспрессию и активность широкого спектра белков, включая ферменты, факторы транскрипции, белки, регулирующие клеточный цикл, апоптоз и выживаемость [61]. Akt фосфорилирует Mdm2 (рис. 3), который ингибирует апоптоз, опосредуемый p53, и способствует канцерогенезу [62]. Akt фосфорилирует ингибиторы клеточного цикла p21<sup>Cip1/WAF1</sup> и p27<sup>Kip1</sup>, что приводит к их локализации в цитоплазме, росту клеток и ингибированию апоптоза. Akt также фосфорилирует и ингибирует Bax, Bad и каспазу-9, что способствует выживанию клеток. Akt может фосфорилировать и активировать киназу I $\kappa$ B (IKK), что приводит к активации NF- $\kappa$ B [63]. Akt фосфорилирует и активирует эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS) (рис. 3), которая катализирует образование вазодилатора и противовоспалительного фактора — оксида азота (NO), обеспечивая потенциальную связь между ИР и сердечно-сосудистыми заболеваниями [64]. Менее изучено при PI3K-зависимом действии инсулина семейство киназ SGK, которые гомологичны Akt и также активируются двойным фосфорилированием PDK-1 и mTORC2 [65].

В отсутствие ингибирующего фосфорилирования со стороны Akt AS160/TBC1D4 лимитирует поглощение глюкозы, GSK-3 $\beta$  подавляет превращение глюкозы в гликоген, FOXO1 способствует транскрипции генов глюконеогенеза в печени, TSC2 блокирует стимуляцию белкового синтеза, ингибируя mTOR/p70S6K.

В опосредовании эффекта инсулина, помимо PI3K класса Ia, могут принимать участие PI3K классов II, III и PIKfyve. Продуктом класса II PI3K является фосфатидилинозитол-3-фосфат,

регулирующий транспорт глюкозы в мышцах и экспрессию генов в панкреатических  $\beta$ -клетках [12, 66]. PIKfyve, содержащая fyve-фингер-домен, активируется Akt и может участвовать в транслокации транспортера GLUT-4.

Одним из важнейших эффектов инсулина в организме является увеличение в 20-50 раз транспорта глюкозы через мембраны мышечных и жировых клеток путем облегченной диффузии по градиенту концентрации с помощью мембранных белковых переносчиков — GLUT [9, 67, 68]. В мембранах разных видов клеток выявлены 6 типов GLUT, но только один из них, GLUT-4, является инсулинзависимым и находится в мембранах клеток скелетных мышц, миокарда, жировой ткани [69, 70]. Сверхэкспрессия под действием инсулина субстрата инсулинового рецептора IRS вызывает PI3K-зависимую транслокацию GLUT-4 в мембранах адипоцитов. В регуляции транслокации белка-транспортера глюкозы важнейшую роль играют атипичные протеинкиназы PKC  $\lambda/\zeta$  и Akt [45]. Перемещение GLUT-4 к мембране наблюдается уже через несколько минут после взаимодействия рецептора с инсулином.

### Список использованной литературы

- De Meyts P. The insulin receptor and its signal transduction network. In: L.J. De Groot, G. Chrousos, K. Dungan, K.R. Feingold, A. Grossman, J.M. Hershman, et al. (eds). *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-2017.
- Sparrow LG, Macaulay SL. Insulin receptor complex and signaling by insulin. In: *Hand Book of cell signaling*. RA Bradshaw and EA Dennis (eds). Academic Press. 2004;1:293-7.
- Boura-Halfon S, Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;296: E581–E91.
- Bertrand L, Horman S, Beauloye C, Vanoverschelde JL. Insulin signalling in the heart. *Cardiovasc Res*. 2008;79:238-48.
- Burnstock G, Novak I. Purinergic signalling in the pancreas in health and disease. *J Endocrinol*. 2012;213(2):123-41.
- Dumont JE, Dremier S, Pirson I, Maenhaut C. Cross signaling, cell specificity, and physiology. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002;283: C2–C28.
- Saltiel AR, Pessin JE. Insulin signaling in microdomains of the plasma membrane. *Traffic*. 2006;4:711-6.
- 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.
- Leto D, Saltiel AR. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2012;13(6):383-96.
- Youngren JF. Regulation of insulin receptor function. *Cell Mol Life Sci*. 2007;64:873-91.
- 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. *Endocr Rev*. 2009;30:586-623.
- Siddle K. Signalling by insulin and IGF receptors: supporting acts and new players. *J Mol Endocrinol*. 2011;47(1):1-10.
- Smith BJ, Huang K. Structural resolution of a tandem hormone-binding element in the insulin receptor and its implications for design of peptide agonists. *PNAS*. 2010;107(15):6771-6.
- Cai W, Sakaguchi M, Kleinriders A, Gonzalez-Del Pino G, Dreyfuss JM, O'Neill BT, et al. Domain-dependent effects of insulin and IGF-1 receptors on signalling and gene expression. *Nat Commun*. 2017;8:14892.
- De Meyts P. Receptor tyrosine kinase signal transduction and the molecular basis of signalling specificity. In: DL Wheeler, Y. Yarden (eds.). *Receptor tyrosine kinases: structure, functions and role in human disease*. Humana Press, Springer New York Heidelberg Dordrecht London, 2015;51-76.
- Kiselyov VV, Versteyhe S, Gauguin L, De Meyts P. Harmonic oscillator model of the insulin and IGF1 receptors' allosteric binding and activation. *Mol Syst Biol*. 2009;5(243):1-12.
- Cabail MZ, Li S, Lemmon E, Bowen ME, Hubbard SR, Miller WT. The tyrosine kinase domain of the insulin and IGF1 receptors are functional dimers in the activated state. *Nat Commun*. 2015;6:6406.
- Li S, Covino ND, Stein EG, Till JH, Hubbard SR. Structural and biochemical evidence for an autoinhibitory role for tyrosine 984 in the juxtamembrane region of the insulin receptor. *J Biol Chem*. 2003;278:26007-14.
- Kavran JM, McCabe JM, Byrne PO. How IGF-1 activates its receptor. *Elife*. 2014;10:7554.
- Lee J, Miyazaki M, Romeo GR, Shoelson SE. Insulin receptor activation with transmembrane domain ligands. *J Biol Chem*. 2014;289:19769-77.
- Maruyama IN. Activation of transmembrane cell-surface receptors via a common mechanism? The «rotation model». *Bioessays*. 2015;37:959-67.
- Goldfine ID, Maddux BA, Youngren JF, Reaven G, Accili D, Trischitta V, et al. 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;29:62-75.
- Jensen M, De Meyts P. Molecular mechanisms of differential intracellular signaling from the insulin receptor. *Vitam Hormon*. 2009;80:51-75.
- Nelson JD, LeBoeuf RC, Bomszyk K. Direct recruitment of insulin receptor and ERK signaling cascade to insulin-inducible gene loci. *Diabetes*. 2011;60:127-37.
- Yoon MS. The role of mammalian target of rapamycin (mTOR) in insulin signaling. *Nutrients*. 2017;9(11): P. E1176.
- Yin Y, Hua H, Li M, Liu S, Kong Q, Shao T, et al. mTORC2 promotes type I insulin-like growth factor receptor and insulin receptor activation through the tyrosine kinase activity of mTOR. *Cell. Res*. 2016;26(1):46-65.
- Fritsche L, Weigert C, Häring HU, Lehmann R. How insulin receptor substrate proteins regulate the metabolic capacity of the liver – implications for health and disease. *Curr Med Chem*. 2008;15(13):1316-29.
- Shaw LM. The insulin receptor substrate (IRS) proteins: at the intersection of metabolism and cancer. *Cell. Cycle*. 2011;10(11):1750-6.
- Tseng YH, Butte AJ, Kokkotou E, Yechoor VK, Taniguchi CM, Kriauciunas KM, et al. Prediction of preadipocyte differentiation by gene expression reveals role of insulin receptor substrates and necln. *Nat Cell Biol*. 2005;7(6):601-11.
- Bouzakri K, Zachrisson A, Al Khalili L, Zhang BB, Koistinen HA, Krook A, et al. siRNA-based gene silencing reveals specialized roles of IRS-1/Akt2 and IRS-2/Akt1 in glucose and lipid metabolism in human skeletal muscle. *Cell. Metab*. 2006;4(1):89-96.
- Versteyhe S, Blanquart C, Hampe C, Mahmood S, Christeff N, De Meyts P, et al. Insulin receptor substrates-5 and -6 are poor substrates for the insulin receptor. *Mol Med Report*. 2010;3(1):189-93.
- Siddle K. Molecular basis of signaling specificity of insulin and IGF receptors: Neglected corners and recent advances. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012;3:34.
- Boucher J, Kleinriders A, Kahn CR. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014;6: a009191.
- Seiple RK. EJE PRIZE2016: How does insulin resistance arise, and how does it cause disease? Human genetic lessons. *Eur J Endocrinol*. 2016;174(5): R209-23.
- Sun XJ, Liu F. Phosphorylation of IRS proteins Yin-Yang regulation of insulin signaling. *Vitam Hormon*. 2009;80:351-87.
- Copps KD, White MF. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. *Diabetologia*. 2012;55(10):2565-82.



## Огляди

37. Herrema H, Lee J, Zhou Y, Copps KD, White MF, Ozcan U. IRS1Ser phosphorylation does not mediate mTORC1-induced insulin resistance. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;443(2):689-93.
38. Fritsche L, Neukamm SS, Lehmann R, Kremmer E, Hennige AM, Hunder-Gugel A, et al. Insulin-induced serine phosphorylation of IRS-2 via Erk1/2 and mTOR: studies on the function of Ser 675 and Ser 907. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;300(5):E824-E836.
39. Zeidan Q, Hart GW. The intersections between O-GlcNAcylation and phosphorylation: implications for multiple signaling pathways. *J Cell Sci.* 2010; 123:13-22.
40. Foukas LC, Claret M, Pearce W, Okkenhaug K, Meek S, Peskett E, et al. Critical role for the p110alpha phosphoinositide-3-OH kinase in growth and metabolic regulation. *Nature.* 2006;441(7091):366-70.
41. Sopsakis VR, Liu P, Suzuki R, Kondo T, Winnay J, Tran TT, et al. Specific roles of the p110alpha isoform of phosphatidylinositol 3-kinase in hepatic insulin signaling and metabolic regulation. *Cell Metab.* 2010;11(3):220-30.
42. Chudasama KK, Winnay J, Johansson S, Claudi T, König R, Haldorsen I, et al. SHORT syndrome with partial lipodystrophy due to impaired phosphatidylinositol 3 kinase signaling. *Am J Hum Genet.* 2013;93(1):150-7.
43. Burke JE, Vadas O, Berndt A. Dynamics of the phosphoinositide 3-kinase p110d interaction with p85a and membranes reveals aspects of regulation distinct from p110a. *Structure.* 2011;19(8):1127-37.
44. Zhang X, Vadas O, Perisic O, Anderson KE, Clark J, Hawkins PT, et al. Structure of lipid kinase p110b/p85b elucidates an unusual SH2-domain-mediated inhibitory mechanism. *Mol Cell.* 2011;41(5):567-78.
45. 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.
46. Pearce LR, Komander D, Alessi DR. The nuts and bolts of AGC protein kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11:9-22.
47. Bayascas JR. PDK1: The major transducer of PI 3-kinase actions. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2010;346:9-29.
48. Oh WJ, Jacinto E. mTOR complex 2 signaling and functions. *Cell Cycle.* 2011;10:2305-16.
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;332(6035):1317-22.
50. Bozulic L, Surucu B, Hynx D, Hemmings BA. PKBa/Akt1 acts downstream of DNA-PK in the DNA double-strand break response and promotes survival. *Mol Cell.* 2008;30:203-13.
51. Wong RH, Chang I, Hudak CS, Hyun S, Kwan HY, Sul HS. A role of DNA-PK for the metabolic gene regulation in response to insulin. *Cell.* 2009; 136(6):1056-72.
52. Schultze SM, Jensen J, Hemmings BA, Tschopp O, Niessen M. Promiscuous affairs of PKB/AKT isoforms in metabolism. *Arch Physiol Biochem.* 2011;117(2):70-7.
53. Phukan S, Babu VS, Kannoji A, Hariharan R, Balaji VN. GSK3beta: role in therapeutic landscape and development of modulators. *Br J Pharmacol.* 2010;160(1):1-19.
54. Moltke I, Grarup N, Jørgensen ME, Bjerregaard P, Treebak JT, Fumagalli M, et al. A common Greenlandic TBC1D4 variant confers muscle insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature.* 2014;512(7513):190-3.
55. Düvel K, Yécies JL, Menon S, Raman P, Lipovsky AI, Souza AL, et al. Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1. *Mol Cell.* 2010;39(2):171-83.
56. Kim KW, Donato JJr, Berglund ED, Choi YH, Kohno D, Elias CF, et al. FOXO1 in the ventromedial hypothalamus regulates energy balance. *Clin Invest.* 2012a;122(7):2578-89.
57. Lee S, Dong HH. FoxO integration of insulin signaling with glucose and lipid metabolism. *J Endocrinol.* 2017;233(2):R67-R79.
58. Tzivion G, Dobson M, Ramakrishnan G. FoxO transcription factors: Regulation by AKT and 14-3-3 proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2011;1813:1938-45.
59. Li X, Monks B, Ge Q, Birnbaum MJ. Akt/PKB regulates hepatic metabolism by directly inhibiting PGC-1a transcription coactivator. *Nature.* 2007; 447:1012-16.
60. Degerman E, Ahmad F, Chung YW, Guirguis E, Omar B, Stenson L, et al. From PDE3B to the regulation of energy homeostasis. *Curr Opin Pharmacol.* 2011;11(6):676-82.
61. Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: Navigating downstream. *Cell.* 2007;129:1261-74.
62. Cheng X, Xia W, Yang JY, Hsu JL, Lang JY, Chou CK, et al. Activation of murine double minute 2 by Akt in mammary epithelium delays mammary involution and accelerates mammary tumorigenesis. *Cancer Res.* 2010; 70(19):7684-9.
63. Bai D, Ueno L, Vogt PK. Akt-mediated regulation of NF-kB and the essentialness of NF-kB for the oncogenicity of PI3K and Akt. *Int J Cancer.* 2009; 125:2863-70.
64. Yu Q, Gao F, Ma XL. Insulin says NO to cardiovascular disease. *Cardiovasc Res.* 2011a;89:516-24.
65. Bruhn MA, Pearson RB, Hannan RD, Sheppard KE. Second AKT: The rise of SGK in cancer signaling. *Growth Factors.* 2010;28:394-408.
66. Leibiger B, Moede T, Uhles S, Barker CJ, Creveaux M, Domin J, et al. Insulin-feedback via PI3KC2alpha activated PKBalpha/Akt1 is required for glucose-stimulated insulin secretion. *FASEB J.* 2010;24(6):1824-37.
67. Steinbusch LK, Schwenk RW, Ouwens DM, Diamant M, Glatz JF, Luiken JJ. Subcellular trafficking of the substrate transporters GLUT4 and CD36 in cardiomyocytes. *Cell Mol Life Sci.* 2011;68(15):2525-38.
68. Zaid H, Antonescu CN, Randhawa VK, Klip A. Insulin action on glucose transporters through molecular switches, tracks and tethers. *Biochem J.* 2008;413(2):201-15.
69. Brozinick JTJr, Hawkins ED, Strawbridge AB, Elmendorf JS. Disruption of cortical actin in skeletal muscle demonstrates an essential role of the cytoskeleton in glucose transporter 4 translocation in insulin-sensitive tissues. *J Biol Chem.* 2004;279:40699-706.
70. Hoffman NJ, Elmendorf JS. Signaling, cytoskeletal and membrane mechanisms regulating GLUT4 exocytosis. *Trends Endocrinol Metab.* 2011;22(3):110-6.

(Надійшла до редакції 04.07.2018 р.)

## Рецепція та внутрішньоклітинні механізми дії інсуліну

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

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

**Резюме.** В огляді проаналізовано 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 в трансдукції, посиленні та пригніченні сигналу інсуліну.

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

## Reception and intracellular mechanisms of insulin action

**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 the 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.

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