

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

### *Физико-химическая биология*

УДК 591.147.7:616.633.455.623

#### **Молекулярные механизмы секреции инсулина $\beta$ -клетками островков Лангерганса и перспективные мишени фармакологического воздействия для лечения сахарного диабета**

В.В. Шаройко, Т.Б. Тенникова

*Институт химии Санкт-Петербургского государственного университета, г. Санкт-Петербург*

*Информация о молекулярных механизмах секреции инсулина  $\beta$ -клетками островков Лангерганса имеет первостепенное значение в понимании молекулярного патогенеза сахарного диабета и является фундаментальной основой для разработки современных фармацевтических средств патогенетической терапии сахарного диабета и его осложнений. В обзоре представлены современные данные в области изучения молекулярно-биологических аспектов регуляции секреции инсулина и обсуждаются перспективные мишени для фармакотерапии сахарного диабета.*

Ключевые слова:  $\beta$ -клетки, островки Лангерганса, секреция инсулина, сахарный диабет, патогенетическая терапия.

*The information about molecular mechanisms underlying insulin secretion in  $\beta$ -cells of islets of Langerhans is of paramount importance in understanding of molecular pathogenesis of diabetes mellitus and is fundamental basis for the development of modern pharmaceutical pathogenetic therapy for diabetes mellitus and its complications. The review presents the current data for the study of molecular and biological aspects of the regulation of insulin secretion. The promising targets for pharmacological intervention of diabetes mellitus are discussed.*

Key words:  $\beta$ -cells, islets of Langerhans, insulin secretion, diabetes, pathogenetic therapy.

Сахарный диабет (СД) является одним из наиболее распространенных и социально значимых заболеваний [1]. По определениям Международной Диабетической Федерации (МДФ) и Всемирной Организации Здравоохранения СД характеризуется как эпидемия [2]. Предполагаемый показатель распространенности этого заболевания к 2025 г. может составить около 330 млн. человек. Согласно данным МДФ, Российская Федерация входит в пятерку стран с наибольшим количеством больных СД (млн. чел.):

Индия – 40,9, Китай – 39,8, США – 19,2, РФ – 9,6, Германия – 7,4. Ежегодно в РФ число больных СД увеличивается на 300 тыс. человек [3]. Следует отметить, что, кроме самого СД, большую опасность представляют и осложнения СД со стороны сердечно-сосудистой, выделительной, эндокринной, нервной, сенсорной и других систем организма, которые являются причиной инвалидизации диабетических пациентов и их преждевременной смерти [2].

Изучение молекулярных механизмов регуляции секреции инсулина  $\beta$ -клетками островков Лангерганса имеет первостепенное значение для понимания молекулярного патогенеза СД и является фундаментальной основой для разработки современных фармацевтических средств патогенетической терапии СД и его осложнений.

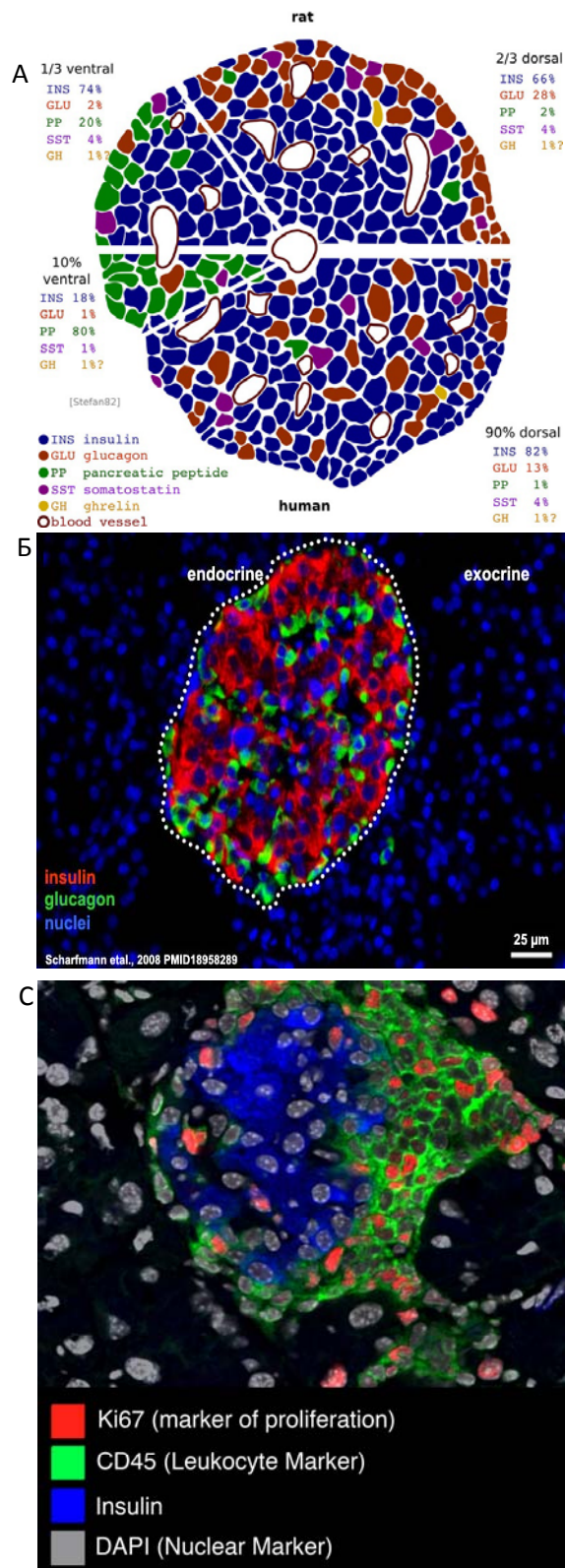
---

ШАРОЙКО Владимир Владимирович – д.б.н., в.н.с.;  
ТЕННИКОВА Татьяна Борисовна – д.х.н., проф.,  
г.н.с.

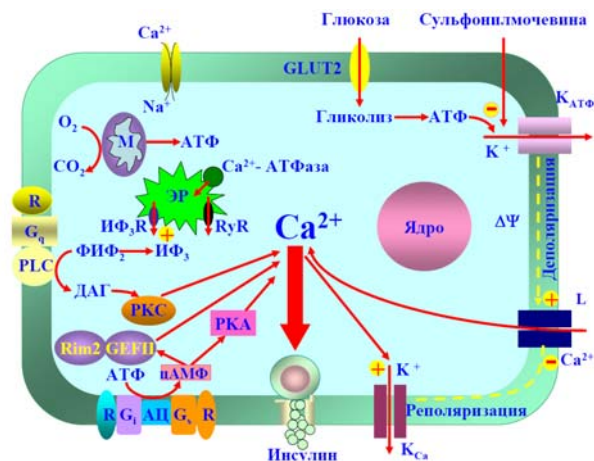
В статье обобщены современные данные в области изучения молекулярно-биологических аспектов регуляции секреции инсулина, в том числе приведены результаты исследований автора, полученные в содружестве с коллегами.

**Островки Лангерганса.** Островки Лангерганса (рис. 1, А) представляют собой сферические образования, состоящие из клеток, секретирующих набор полипептидных гормонов [4]. Один островок состоит примерно из нескольких тысяч клеток (как правило, от 2000 до 5000). Пять основных типов клеток образуют островки Лангерганса, а именно: α-клетки, продуцирующие гормон глюкагон (15–20% от общего числа клеток), β-клетки, продуцирующие гормоны инсулин и амилин (65–80% от общего числа клеток), δ-клетки, продуцирующие гормон соматостатин (3–10% от общего числа клеток), PP-клетки, продуцирующие панкреатический полипептид (3–5% от общего числа клеток) и ε-клетки, продуцирующие гормон грелин (<1% от общего числа клеток) [5]. На рис. 1, Б и С приведены флуоресцентные микрофотографии островков Лангерганса здорового человека и пациента с СД первого типа (СД1), соответственно [6].

**Глюкоза как главный триггер секреции инсулина.** Глюкоза является ключевым физиологическим стимулом секреции инсулина β-клетками островков поджелудочной железы (рис. 2). Повышение концентрации глюкозы в крови после приема пищи приводит к активации доставки глюкозы в β-клетки транспортным белком GLUT1 (у человека) [7]. Последующий метаболизм глюкозы в β-клетках запускает метаболические и сигнальные каскады реакций, которые активируют секрецию инсулина по двум главным механизмам: иницирующий (зависит от активности K<sup>+</sup>-каналов) и амплифицирующий (не зависит от активности K<sup>+</sup>-каналов) [8]. Первый из них запускается при повышении соотношения концентрации АТФ к концентрации АДФ [9], которое увеличивается в результате метаболизма глюкозы [10, 11]. АТФ-зависимые калиевые каналы (K<sub>АТФ</sub>-каналы) при накоплении молекул АТФ в клетке закрываются, вызывая деполяризацию плазмалеммы, что приводит к открытию потенциал-зависимых Ca<sup>2+</sup>-каналов L-типа [12]. Дальнейшее увеличение внутриклеточной концентрации ионов Ca<sup>2+</sup> стимулирует экзоцитоз инсулина (рис. 2) [13]. Кроме того, АТФ представляет собой источник энергии для транспорта, слияния инсулинсодержащих везикул с мембраной β-клетки и последующей секреции инсулина [14]. Инсулин и С-пептид хранятся в секреторных гранулах в эквимольных количествах и высвобож-



**Рис. 1.** Островок Лангерганса: А – схема строения островка Лангерганса [4]; Б – флуоресцентная микрофотография островка Лангерганса здорового человека [6] (публикуется с разрешения издателя); С – флуоресцентная микрофотография островка Лангерганса, атакованного иммунными клетками при развитии СД1 (взято с Интернет-сайта <http://www.lucywalkerlab.com>)



**Рис. 2.** Основные метаболические и сигнальные пути, участвующие в секреции инсулина  $\beta$ -клетками [8] (с изменениями):

АЦ – аденилатциклаза; АТФ – аденозин 5'-трифосфат; ДАГ – диацилглицерол; GEFII – цАМФ-регулируемый фактор обмена гуаниновых нуклеотидов II; ИФ<sub>3</sub> – инозитол 1,4,5-трифосфат; цАМФ – аденозин 3',5'-циклический монофосфат; ЭР – эндоплазматический ретикулум; K<sub>ATP</sub> – АТФ-зависимый калиевый канал; K<sub>Ca</sub> – Ca<sup>2+</sup>-зависимый калиевый канал; L – высокопороговый канал L-типа; М – митохондрия; ФИФ<sub>2</sub> – фосфатидилинозитол 4,5-дифосфат; PKA – протеинкиназа А; PKC – протеинкиназа С; PLC – фосфолипаза С; R – рецептор; Rim2 – белок, взаимодействующий с Rab3

даются в системный кровоток при повышении концентрации глюкозы крови после приема пищи. С-пептид (connectingpeptide), включающий 31 аминокислотный остаток, является продуктом направленного протеолиза молекулы проинсулина, в которой он соединяет А- и В-цепи молекулы инсулина. С-пептид обеспечивает правильную пространственную сборку и укладку молекулы инсулина в эндоплазматическом ретикулуме  $\beta$ -клеток [15].

Ключевая роль инсулина в контроле энергетического обмена, функций эндокринной и нервной систем является общепризнанной, в то время как функциональное значение С-пептида как регулятора физиологических и биохимических процессов начало изучаться сравнительно недавно. Инсулин – анаболический гормон, образованный остатками 51 аминокислоты и его функция заключается в регуляции углеводного метаболизма, в первую очередь глюкозы, а также в регуляции белкового и липидного метаболизма. Основными мишенями действия инсулина являются мышцы, печень и жировая ткань, которые под его действием способны поглощать глюкозу, а также аминокислоты и жирные кислоты. Инсулин увеличивает скорость гликолиза, синтеза гликогена, белков и триглицеридов, одновременно ингибирует глюконеогенез, гликогенолиз, протеолиз и липолиз. Секреция ин-

сулина минимальна при голодании, мышечной и нервной нагрузке и максимальна после приема пищи.

С-пептид препятствует развитию атерогенных изменений в сосудах и осложнений СД1, обладает противовоспалительным и иммуномодулирующим действием, участвует в восстановлении и регенерации гладкомышечных клеток, что приводит к улучшению микро- и макроциркуляции [16 – 21].

**Сигнальные и метаболические пути в амплификации секреции инсулина.** С участием амплифицирующего механизма происходит усиление глюкозостимулированной секреции инсулина. Амплифицирующий механизм является достаточно сложным и изучен не полностью. Известно, что он контролируется так называемыми сопрягающими стимулами, которые генерируются в цитозоле и митохондриях  $\beta$ -клеток. К таким стимулам относятся НАДН, ФАДН<sub>2</sub>, НАДФН [22, 23], изоферменты сигнального каскада, такие как аденилатциклаза и протеинкиназы [24 – 26], изоферменты фосфолипазы А<sub>2</sub> и сигнальный каскад арахидоновой кислоты [27], также диацилглицерин (ДАГ) и сигнальные пути, контролируемые Ca<sup>2+</sup>-зависимой протеинкиназой С (PKC) [28].

При метаболизме высокоэнергетических субстратов в митохондриях  $\beta$ -клеток генерируются сигнальные молекулы, которые участвуют в амплифицирующем механизме глюкозостимулированной секреции инсулина [29 – 30]. Митохондрии в  $\beta$ -клетках активно поглощают пируват в реакциях, катализируемых пируваткарбоксилазой (метаболизует ~40% пирувата) и пируватдегидрогеназой (метаболизует ~60% пирувата) [31]. В  $\beta$ -клетках до 90% пирувата образуется при метаболизме глюкозы [32]. Биохимические превращения пирувата в митохондриях генерируют метаболические сигналы, участвующие в амплификации секреции инсулина. Глюкоза через анаплероз стимулирует увеличение концентрации цитрата в митохондриях, который далее экспортируется в цитозоль и превращается в ацетил-КоА и оксалоацетат. Ацетил-КоА карбоксилируется до малонил-КоА. В свою очередь малонил-КоА ингибирует карнитинпальмитилтрансферазу 1 (СРТ-1). Ингибирование СРТ-1 подавляет транспорт жирных кислот в митохондрии, где происходит их  $\beta$ -окисление. В результате ингибирования  $\beta$ -окисления в цитозоле  $\beta$ -клеток накапливаются длинноцепочные молекулы ацил-КоА [33], которые непосредственно [34] или опосредованно выступают в качестве сигнальных молекул, например, при активации некоторых изоформ PKC, которые непосредственно стимулируют

экзоцитоз инсулина, или путем пальмитоилирования/ацилирования G-белков [35], синаптогамина [36], SNAP25 (synaptosomal-associated protein, 25 кД) [37] и других белков экзоцитоза в β-клетках [38]. Роль малонил-КоА в секреции инсулина противоречива [39, 40].

Аденилатциклазый и PKA-зависимые сигнальные пути ингибируются адреналином и активируются вазоактивным интестинальным пептидом, пептидом гипофиза (активирует аденилатциклазу), глюкагоноподобным пептидом 1 (ГПП-1) и желудочным ингибирующим пептидом. Перечисленные пептиды действуют через G<sub>s</sub>-белок, стимулируя аденилатциклазу, повышают уровень вторичного посредника – цАМФ. цАМФ, в свою очередь, связываясь с аллостерическим центром фермента PKA, вызывает его активацию. При активации PKA происходит фосфорилирование ряда белков, что приводит к усилению секреции инсулина.

ГПП-1 стимулирует секрецию инсулина в зависимости от концентрации глюкозы в крови. При базальной концентрации глюкозы ГПП-1 не стимулирует секрецию инсулина β-клетками, тогда как при повышении концентрации глюкозы ГПП-1 проявляет свою инсулотропную активность [41]. ГПП-1 модулирует секрецию инсулина через K<sup>+</sup>-канал-независимый механизм, стимулируя активацию PKA-зависимого [42] и PKA-независимого сигнальных путей, а также при участии цАМФ-связывающего белка фактора обмена гуаниновых нуклеотидов 2 типа (GEFII или Ерас2) [43, 44]. Кроме того, было показано, что цАМФ-GEFII стимулирует синтез АТФ в митохондриях [45]. При взаимодействии с белком Rim2 (белок, регулирующий экзоцитоз инсулина при взаимодействии с G-белком секреторных везикул) цАМФ-GEFII активирует цАМФ-зависимый, но PKA-независимый экзоцитоз инсулина β-клетками. Этот сигнальный путь запускается при стимуляции β-клеток ГПП-1 [25].

**Участие арахидоновой кислоты и ее метаболитов в секреции инсулина.** Арахидоновая кислота и ее метаболиты – важные посредники в механизме секреции инсулина [46]. В островках Лангерганса арахидоновая кислота является одним из наиболее часто встречающихся ацильных компонентов глицеролипидов, составляющих не менее 30% от всех остатков жирных кислот в глицеролипидах. Высвобождение арахидоновой кислоты в β-клетках контролируется скоростью метаболизма глюкозы. В предыдущих исследованиях также было установлено, что глюкозостимулированное высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов наблюдается при активации фосфоли-

паз класса A<sub>2</sub>(PLA<sub>2</sub>) (рис. 3). PLA<sub>2</sub> высвобождают свободные жирные кислоты из положения sn-2 мембранных фосфолипидов. В β-клетках метаболизм DAG и свободных жирных кислот является циклическим процессом [47].

Цитоплазматические PLA<sub>2</sub> классифицируются на две группы: сPLA<sub>2</sub> (цитоплазматические Ca<sup>2+</sup>-зависимые, группа IV) и iPLA<sub>2</sub> (цитоплазматические Ca<sup>2+</sup>-независимые, группа VI). Ca<sup>2+</sup> в микромолярных концентрациях необходим для транслокации сPLA<sub>2</sub> в мембраны, но при этом каталитическая активность сPLA<sub>2</sub> не зависит от присутствия Ca<sup>2+</sup>. Кроме того, сPLA<sub>2</sub> обладает селективностью в отношении фосфолипидов, содержащих остаток арахидоновой кислоты в положении sn-2. iPLA<sub>2</sub> не имеет специфичности по отношению к фосфолипидам, содержащим остатки арахидоновой кислоты и также не требует Ca<sup>2+</sup> для каталитической активности [48]. Получены данные, устанавливающие роль изоформ iPLA<sub>2</sub>, стимуляция ферментативной активности которых происходит при повышении концентрации АТФ. Процесс сопровождается отщеплением арахидоновой кислоты из молекул фосфолипидов при активации метаболизма глюкозы [49]. Следует отметить, что глюкоза стимулирует высвобождение арахидоновой кислоты независимо от повышения внутриклеточной концентрации Ca<sup>2+</sup> [50].

Используя бромоеноллактон, необратимый фармакологический ингибитор iPLA<sub>2</sub>, показано ингибирование секреции инсулина в условиях *invitro* [47]. Установлено, что глюкозостимулированная секреция инсулина не связана с метаболизмом арахидоновой кислоты при участии

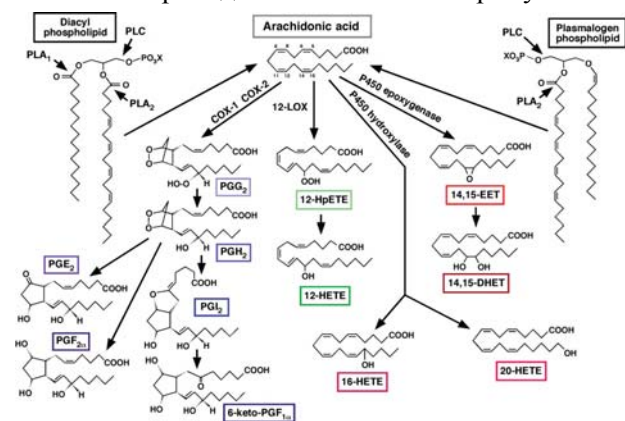


Рис. 3. Метаболизм арахидоновой кислоты:

PLA<sub>2</sub> – фосфолипаза A<sub>2</sub>; X – полярная группа (холин, серин, этаноламин); PG – простагландины; COX – циклооксигеназа; 12-HpETE – 12-гидропероксэйкозатриеновая кислота; LOX – липооксигеназа; HETE – гидроксэйкозатриеновая кислота; P450 epoxygenase – цитохром P450 эпоксигеназа; EET – эпоксэйкозатриеновая кислота; DHET – дигидроксэйкозатриеновая кислота [48] (с изменениями)

циклооксигеназного и липооксигеназного метаболических путей (рис. 3) [51]. С другой стороны, превращение арахидоновой кислоты в эпоксизэйкозатриеновые кислоты, катализируемое цитохром P450, играет важную роль в секреции инсулина (рис. 3) [52].

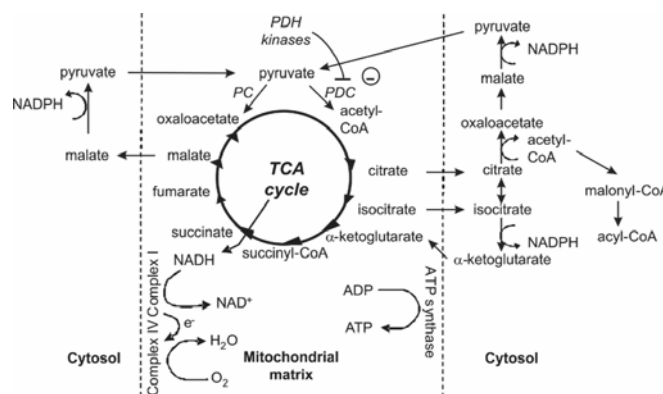
**Роль пирувата в секреции инсулина.** Пируват, образовавшийся в ходе гликолиза, вступает в цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса) через окислительное декарбоксилирование до ацетил-КоА в реакциях пируватдегидрогеназного комплекса (PDC) либо путем карбоксилирования в оксалоацетат при участии пируваткарбоксилазы (PC; рис. 4). Превращение пирувата в лактат в  $\beta$ -клетках лимитировано в условиях нормоксии, а также ввиду низкого уровня экспрессии лактатдегидрогеназы [53 – 54]. Экспрессия PC довольно высока в  $\beta$ -клетках по сравнению с другими типами клеток в островках Лангерганса [55]. Примерно 40 % пирувата поступает в цикл Кребса путем его карбоксилирования PC; процесс запускается при повышении скорости метаболизма глюкозы [45]. Таким образом, PC является одним из ключевых ферментов метаболизма пирувата [56].

Активность PDC регулируется субстратами и продуктами реакции, а также балансом между фосфорилированными (катализируется киназами) и дефосфорилированными формами пируватдегидрогеназы (катализируется фосфатазами) [57]. Идентифицировано четыре изоформы киназ пируватдегидрогеназы (PDH киназы): PDH киназы 1, 2 и 4 экспрессируются в островках Лангерганса [58]. Роль PDC в глюкозостимулированной секреции инсулина менее изучена по сравнению с PC. С одной стороны, ни активация PDC дихлорацетатом натрия, ни аденовирусная экспрессия каталитической субъединицы фосфатазы пируватдегидрогеназы [59], ни инактивация PDC путем экспрессии PDH 3 киназы, изоформы с высокой активностью, которая в норме отсутствует в островках [60], не оказывала воздействия на метаболизм пирувата и секрецию инсулина. С другой стороны, показано, что поток метаболитов через PDC и PC одинаково важен для секреции инсулина в клональных  $\beta$ -клетках INS-1 832/13 [61]. Кроме того, увеличение экспрессии PDH киназы 4 в островках Лангерганса при голодании связано с подавлением глюкозостимулированной секреции инсулина [62], что дает основания полагать, что эта киназа имеет важное значение в контроле углеводного метаболизма. Активность PDC значительно снижена в островках Лангерганса животных с ожирением и СД2 [60]. PDC вносит существенный

вклад в регуляцию глюкозостимулированной секреции инсулина [53].

**Ключевая роль митохондрий в секреции инсулина.** Известно, что СД2 является мультифакторным полигенным заболеванием, которое характеризуется снижением секреции инсулина  $\beta$ -клетками и инсулинорезистентностью тканей-мишеней. С одной стороны, наличие набора специфических мутаций в геноме является причиной нарушения функциональной активности  $\beta$ -клеток, приводящее впоследствии к развитию СД2. С другой стороны, повышенный уровень глюкозы в крови, вследствие дефицита инсулина, оказывает токсическое действие на  $\beta$ -клетки, что также является причиной подавления функциональной активности  $\beta$ -клеток и их гибели. В тканях-мишенях инсулин контролирует метаболизм глюкозы, включая регуляцию работы митохондрий. С учетом этого понятно, что дисфункция митохондрий приводит к нарушению секреции инсулина и действию инсулина на ткани-мишени. Оба этих патологических процесса приводят к развитию СД2. Действительно, у пациентов с дисфункцией митохондрий, вызванной мутациями в молекуле мтДНК, наблюдается сниженная инсулинсекреторная активность  $\beta$ -клеток [63 – 65].

Экспериментальные исследования показали, что секреция инсулина  $\beta$ -клетками сильно зависит от уровня экспрессии мтДНК [66]. Несмотря на то, что некоторые гены системы окислительного фосфорилирования (OXPHOS) митохондрии имеют пониженный уровень экспрессии у пациентов с СД2, но только несколько полиморфизмов этих генов связаны с развитием СД2



**Рис. 4.** Метаболизм пирувата:

ТСАcycle – цикл трикарбоновых кислот (цикл Кребса); PC – пируваткарбоксилаза; PDC – пируватдегидрогеназный комплекс; PDHkinases – киназы пируватдегидрогеназы. Reproduced with permission, from Krus U., Kotova O., Spégel P., Hallgard E., Sharoyko V.V., Vedin A., Moritz T., Sugden M.C., Koeck T., Mulder H., 2010, Pyruvate dehydrogenase kinase 1 controls mitochondrial metabolism and insulin secretion in INS-1 832/13 clonal beta-cells, 429(1):205-13. © the Biochemical Society

[67]. Система OXPHOS, состоящая из электрон-транспортной системы и АТФ-синтазы, находится на внутренней мембране митохондрий. Она состоит из нескольких белковых комплексов, включающих 90 субъединиц, кодируемых как яДНК, так и мтДНК. Митохондриальный геном кодирует 13 белковых субъединиц, находящихся в электрон-транспортной системе и АТФ-синтазе, а также 2 молекулы рРНК и 22 молекулы тРНК [68].

Для транскрипции мтДНК в митохондриях имеется специализированный аппарат, включающий факторы, необходимые для узнавания промоторов, такие как транскрипционный фактор митохондрии А (TFAM) и транскрипционный фактор митохондрии В2 (TFB2M) [68]. Транскрипционный фактор митохондрии В1 (TFB1M) – паралог TFB2M [69]. Установлено, что TFB1M является метилтрансферазой, которая диметилирует два высококонсервативных остатка аденина, находящихся в петлевой части на 3'-конце 12S рРНК (рис. 5) [69]. TFB1M имеет альтернативное название – диметиладенозинтрансфераза 1, митохондриальная (mDMAT1). Ковалентная модификация 12S рРНК необходима для поддержания целостности малой субъединицы рибосомы, участвующей в трансляции. В случае утраты TFB1M трансляция в митохондриях ингибируется [69]. Вариант TFB1Mrs950994 (G→A) ассоциируется со снижением уровня его экспрессии в β-клетках островков Лангерганса человека. Это приводит к ограничению трансляции субъединиц системы OXPHOS и уменьшению продукции АТФ, что является одной из причин снижения секреции

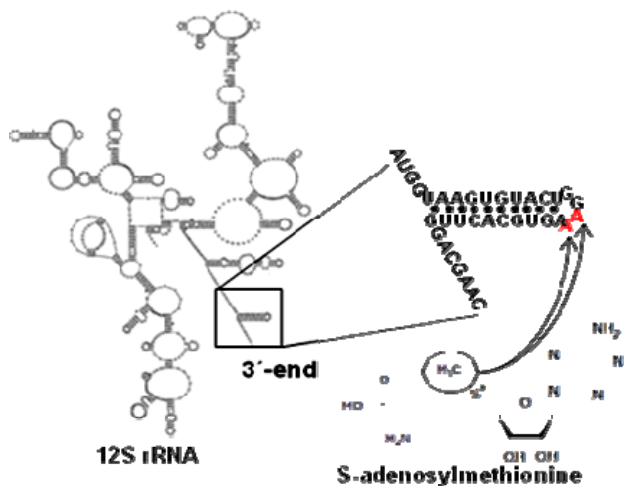


Рис. 5. Участки TFB1M-зависимого диметилирования остатков аденина в молекуле 12S рРНК [69] (с изменениями). Донором метильных групп является S-аденозилметионин

инсулина и повышения риска развития СД2 [70]. На модели мышей со специфическим нокаутом *Tfb1m* в β-клетках было установлено, что утрата TFB1M приводит к нарушению функции митохондрий, снижению секреции инсулина и в конечном итоге к развитию СД2 [71].

**Заключение.** К настоящему времени накоплен обширный экспериментальный материал по молекулярной и клеточной биологии островков Лангерганса, в частности, β-клеток. Тем не менее многие аспекты функционирования β-клеток в норме и при СД остаются изученными не полностью. Идентификация ключевых генов, продуктов их экспрессии, выявление новых механизмов контроля секреции инсулина и выживаемости β-клеток необходимы для оптимизации их функциональной активности и предотвращения гибели при патологических условиях.

*Работа выполнена при финансовой поддержке из средств Санкт-Петербургского государственного университета, грант № 12.38.220.2015 и гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых – докторов наук (конкурс – МД-2015), грант № МД-4650.2015.3.*

## Литература

1. Zimmet P., Alberti K. G., Shaw J. (2001). Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 414, 782 – 787.
2. *IDF Diabetes Atlas*, 6th edition, 2014.
3. *Государственный регистр больных сахарным диабетом*, 2009.
4. Suckale J., Solimena M. (2008). Pancreas islets in metabolic signaling-focus on the beta-cell. *Front Biosci*. 13, 7156 – 7171.
5. Elayat A.A., el-Nagga M.M., Tahir M. (1995). An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets. *J Anat*. 186 ( Pt 3), 629 – 637.
6. Raphaël Scharfmann, Xiangwei Xiao, Harry Heimberg et al. (2008). Beta cells within single human islets originate from multiple progenitors. *PLoS ONE*, 3(10).
7. De Vos A., H. Heimberg et al. (1995). Human and rat beta cells differ in glucose transporter but not in glucokinase gene expression. *The Journal of Clinical Investigation* 96(5): 2489 – 2495.
8. Henquin J. C. (2009). Regulation of insulin secretion: a matter of phase control and amplitude modulation. *Diabetologia*. 52, 739 – 751.
9. LeRoith D. (2002). Beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. *Am J Med*. 113 Suppl 6A, 3S – 11S.
10. Hedekov C. J. (1980). Mechanism of glucose-induced insulin secretion. *Physiol Rev*. 60, 442 – 509.
11. Hedekov C. J., Capito K. (1980). Pancreatic islet metabolism of pyruvate and other potentiators of insulin

- release. Effects of starvation. *HormMetab Res Suppl. Suppl 10*, 8–13.
12. *Ashcroft F. M., Harrison D. E., Ashcroft S. J.* (1984). Glucose induces closure of single potassium channels in isolated rat pancreatic beta-cells. *Nature*. 312, 446–448.
  13. *Arkhammar P., Nilsson T., Rorsman P. et al.* (1987). Inhibition of ATP-regulated K<sup>+</sup> channels precedes depolarization-induced increase in cytoplasmic free Ca<sup>2+</sup> concentration in pancreatic beta-cells. *The Journal of biological chemistry*. 262, 5448–5454.
  14. *Gembal M., Detimary P., Gilon P. et al.* (1993). Mechanisms by which glucose can control insulin release independently from its action on adenosine triphosphate-sensitive K<sup>+</sup> channels in mouse B cells. *J Clin Invest*. 91, 871–880.
  15. *Steiner D.F., Spigelman L., Aten B.* Insulin Biosynthesis: Evidence for a Precursor. *Science*. 1967; 157: 697–700.
  16. *The clinical potential of C-peptide replacement in type 1 diabetes.* Wahren J., Kallas A., Sima A.A. *Diabetes*. 2012 Apr; 61(4): 761–772.
  17. *C-peptide preserves the renal microvascular architecture in the streptozotocin-induced diabetic rat.* Flynn E.R., Lee J., Hutchens Z.M. Jr, et al. *Diabetes Complications*. 2013 Nov-Dec; 27(6): 538–547.
  18. *Impact of C-peptide preservation on metabolic and clinical outcomes in the Diabetes Control and Complications Trial.* Lachin J.M., McGee P., Palmer J.P.; DCCT/EDIC Research Group. *Diabetes*. 2014 Feb; 63(2): 739–748.
  19. *Luppi P., Cifarelli V., Tse H. et al.* Human C-peptide antagonises high glucose-induced endothelial dysfunction through the nuclear factor-kappaB pathway. *Diabetologia*. 2008 Aug; 51(8): 1534–1543.
  20. *Mughal R.S., Scragg J.L., Lister P. et al.* Cellular mechanisms by which proinsulin C-peptide prevents insulin-induced neointima formation in human saphenous vein. *Diabetologia*. 2010 Aug; 53(8): 1761–1771.
  21. *Haidet J., Cifarelli V., Trucco M., Luppi P.* (2012). C-peptide reduces pro-inflammatory cytokine secretion in LPS-stimulated U937 monocytes in condition of hyperglycemia. *Inflamm. Res*. 61: 27–35.
  22. *Detimary P., Jonas J. C., Henquin J. C.* (1996). Stable and diffusible pools of nucleotides in pancreatic islet cells. *Endocrinology*. 137, 4671–4676.
  23. *Sato Y., Henquin J. C.* (1998). The K<sup>+</sup>-ATP channel-independent pathway of regulation of insulin secretion by glucose: in search of the underlying mechanism. *Diabetes*. 47, 1713–1721.
  24. *Seino S., Takahashi H., Fujimoto W., Shibasaki T.* (2009). Roles of cAMP signalling in insulin granule exocytosis. *Diabetes ObesMetab*. 11 Suppl 4, 180–218.
  25. *Kashima Y., Miki T., Shibasaki T. et al.* (2001). Critical role of cAMP-GEFII–Rim2 complex in incretin-potentiated insulin secretion. *J Biol Chem*. 276, 46046–4605.
  26. *Seino S., Shibasaki T.* (2005). PKA-dependent and PKA-independent pathways for cAMP-regulated exocytosis. *Physiol Rev*. 85, 1303–1342.
  27. *Song K., Zhang X., Zhao C. et al.* (2005). Inhibition of Ca<sup>2+</sup>-independent phospholipase A<sub>2</sub> results in insufficient insulin secretion and impaired glucose tolerance. *MolEndocrinol*. 19, 504–515.
  28. *Thams P., Capito K., Hedekov C. J. and Kofod H.* (1990). Phorbol-ester-induced down-regulation of protein kinase C in mouse pancreatic islets. Potentiation of phase 1 and inhibition of phase 2 of glucose-induced insulin secretion. *Biochem J*. 265, 777–787.
  29. *Prentki M.* (1996). New insights into pancreatic beta-cell metabolic signaling in insulin secretion. *Eur J Endocrinol*. 134, 272–286.
  30. *Maechler P., Wollheim C. B.* (1999). Mitochondrial glutamate acts as a messenger in glucose-induced insulin exocytosis. *Nature*. 402, 685–689.
  31. *Khan A., Ling Z. C. and Landau B. R.* (1996). Quantifying the carboxylation of pyruvate in pancreatic islets. *The Journal of biological chemistry*. 271, 2539–2542.
  32. *MacDonald M. J.* (1995). Feasibility of a mitochondrial pyruvate malate shuttle in pancreatic islets. Further implication of cytosolic NADPH in insulin secretion. *J Biol Chem*. 270, 20051–20058.
  33. *Brun T., Roche E., Assimakopoulos-Jeannet F. et al.* (1996). Evidence for an anaplerotic/malonyl-CoA pathway in pancreatic beta-cell nutrient signaling. *Diabetes*. 45, 190–198.
  34. *Deeney J. T., Gromada J., Hoy M. et al.* (2000). Acute stimulation with long chain acyl-CoA enhances exocytosis in insulin-secreting cells (HIT T-15 and NMRI beta-cells). *J Biol Chem*. 275, 9363–9368.
  35. *Yamada S., Komatsu M., Sato Y. et al.* (2003). Nutrient modulation of palmitoylated 24-kilodalton protein in rat pancreatic islets. *Endocrinology*. 144, 5232–5241.
  36. *Chapman E. R., Blasi J., An S., Brose N. et al.* (1996). Fatty acylation of synaptotagmin in PC12 cells and synaptosomes. *BiochemBiophys Res Commun*. 225, 326–332.
  37. *Gonzalo S., Greentree W. K. and Linder M. E.* (1999). SNAP-25 is targeted to the plasma membrane through a novel membrane-binding domain. *J Biol Chem*. 274, 21313–21318.
  38. *Straub S. G. and Sharp G. W.* (2007). Inhibition of insulin secretion by cerulenin might be due to impaired glucose metabolism. *Diabetes Metab Res Rev*. 23, 146–151.
  39. *Antinozzi P. A., Segall L., Prentki M. et al.* (1998). Molecular or pharmacologic perturbation of the link between glucose and lipid metabolism is without effect on glucose-stimulated insulin secretion. A re-evaluation of the long-chain acyl-CoA hypothesis. *J Biol Chem*. 273, 16146–16154.
  40. *Mulder H., Lu D., Finley J. T. et al.* (2001). Overexpression of a modified human malonyl-CoA decarboxylase blocks the glucose-induced increase in malonyl-CoA level but has no impact on insulin secretion in INS-1-derived (832/13) beta-cells. *J Biol Chem*. 276, 6479–6484.
  41. *MacDonald P. E., El-Kholy W., Riedel M. J. et al.* (2002). The multiple actions of GLP-1 on the process of glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes*. 51 Suppl 3, S434–442.
  42. *Zawalich W. S. and Rasmussen H.* (1990). Control of insulin secretion: a model involving Ca<sup>2+</sup>, cAMP and diacylglycerol. *Mol Cell Endocrinol*. 70, 119–137.

43. Holz G. G. (2004). Epac: A new cAMP-binding protein in support of glucagon-like peptide-1 receptor-mediated signal transduction in the pancreatic beta-cell. *Diabetes*. 53, 5–13.
44. McClenaghan N. H., Flatt P. R. and Ball A. J. (2006). Actions of glucagon-like peptide-1 on  $K_{ATP}$  channel-dependent and -independent effects of glucose, sulphonylureas and nateglinide. *J Endocrinol*. 190, 889–896.
45. Holz G. G. (2004). New insights concerning the glucose-dependent insulin secretagogue action of glucagon-like peptide-1 in pancreatic beta-cells. *HormMetab Res*. 36, 787–794.
46. Akiba S. and Sato T. (2004). Cellular function of calcium-independent phospholipase A2. *Biol Pharm Bull*. 27, 1174–1178.
47. Ramanadham S., Song H., Bao S. et al. (2004). Islet complex lipids: involvement in the actions of group VIA calcium-independent phospholipase A(2) in beta-cells. *Diabetes*. 53 Suppl 1, S179–185.
48. Jenkins C.M., Cedars A., Gross R.W. Eicosanoid signalling pathways in the heart. *Cardiovasc Res*. 2009 May 1; 82(2): 240–249. Review.
49. Chakraborti S. (2003). Phospholipase A(2) isoforms: a perspective. *Cell Signal*. 15, 637–665.
50. Wolf B.A., Pasquale S.M. and Turk J. (1991). Free fatty acid accumulation in secretagogue-stimulated pancreatic islets and effects of arachidonate on depolarization-induced insulin secretion. *Biochemistry*. 30, 6372–6379.
51. Persaud S. J., Muller D., Belin V. D. et al. (2007). The role of arachidonic acid and its metabolites in insulin secretion from human islets of langerhans. *Diabetes*. 56, 197–203.
52. Sharoyko V.V., Zaitseva I.I., Leibiger B. et al. Arachidonic acid signaling is involved in the mechanism of imidazoline-induced  $K_{ATP}$  channel-independent stimulation of insulin secretion. *Cell Mol Life Sci*. 2007 Nov; 64(22): 2985–2993.
53. Krus U., Kotova O., Spégel P. et al. Pyruvate dehydrogenase kinase 1 controls mitochondrial metabolism and insulin secretion in INS-1 832/13 clonal beta-cells. *Biochem J*. 2010 Jul 1; 429(1): 205–213.
54. Malmgren S., Nicholls D. G., Taneera J. et al. (2009). Tight coupling between glucose and mitochondrial metabolism in clonal beta-cells is required for robust insulin secretion. *The Journal of biological chemistry*. 284, 32395–32404.
55. Schuit F., De Vos A., Farfari S. et al. (1997). Metabolic fate of glucose in purified islet cells. Glucose-regulated anaplerosis in beta cells. *The Journal of biological chemistry*. 272, 18572–18579.
56. Hasan N. M., Longacre M. J., Stoker S. W. et al. (2008). Impaired anaplerosis and insulin secretion in insulinoma cells caused by small interfering RNA-mediated suppression of pyruvate carboxylase. *The Journal of biological chemistry*. 283, 28048–28059.
57. Sugden M. C. and Holness M. J. (2003). Recent advances in mechanisms regulating glucose oxidation at the level of the pyruvate dehydrogenase complex by PDKs. *Am J PhysiolEndocrinolMetab*. 284, E855–862.
58. Gudi R., Bowker-Kinley M. M., Kedishvili N. Y. et al. (1995). Diversity of the pyruvate dehydrogenase kinase gene family in humans. *The Journal of biological chemistry*. 270, 28989–28994.
59. Nicholls L. I., Ainscow E. K. and Rutter G. A. (2002). Glucose-stimulated insulin secretion does not require activation of pyruvate dehydrogenase: impact of adenovirus-mediated overexpression of PDH kinase and PDH phosphate phosphatase in pancreatic islets. *Biochemical and biophysical research communications*. 291, 1081–1088.
60. Xu J., Han J., Epstein P. N. and Liu Y. Q. (2006). Regulation of PDK mRNA by high fatty acid and glucose in pancreatic islets. *Biochemical and biophysical research communications*. 344, 827–833.
61. Cline G. W., Lepine R. L., Papas K. K. et al. (2004).  $^{13}C$  NMR isotopomer analysis of anaplerotic pathways in INS-1 cells. *The Journal of biological chemistry*. 279, 44370–44375.
62. Sugden M. C., Bulmer K., Augustine D. and Holness M. J. (2001). Selective modification of pyruvate dehydrogenase kinase isoform expression in rat pancreatic islets elicited by starvation and activation of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha: implications for glucose-stimulated insulin secretion. *Diabetes*. 50, 2729–2736.
63. Goto Y., Nonaka I. and Horai S. (1990). A mutation in the tRNA(Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature*. 348, 651–653.
64. Reardon W., Ross R. J., Sweeney M. G. et al. (1992). Diabetes mellitus associated with a pathogenic point mutation in mitochondrial DNA. *Lancet*. 340, 1376–1379.
65. van den Ouweland J. M., Lemkes H. H., Ruitenbeek W. et al. (1992). Mutation in mitochondrial tRNA(Leu)(UUR) gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes mellitus and deafness. *Nat Genet*. 1, 368–371.
66. Silva J. P., Kohler M., Graff C. et al. (2000). Impaired insulin secretion and beta-cell loss in tissue-specific knockout mice with mitochondrial diabetes. *Nat Genet*. 26, 336–340.
67. Ronn T., Poulsen P., Tuomi T. et al. (2009). Genetic variation in ATP5O is associated with skeletal muscle ATP5O mRNA expression and glucose uptake in young twins. *PLoS ONE*. 4, e4793.
68. Scarpulla R. C. (2008). Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. *Physiol Rev*. 88, 611–638.
69. Metodiev M. D., Lesko N., Park C. B. et al. (2009). Methylation of 12S rRNA is necessary for in vivo stability of the small subunit of the mammalian mitochondrial ribosome. *Cell Metab*. 9, 386–397.
70. Koeck T., Olsson A.H., Nitert M.D. et al. A common variant in TFB1M is associated with reduced insulin secretion and increased future risk of type 2 diabetes. *Cell Metab*. 2011 Jan 5; 13(1): 80–91.
71. Sharoyko V.V., Abels M., Sun J. et al. Loss of TFB1M results in mitochondrial dysfunction that leads to impaired insulin secretion and diabetes. *Hum Mol Genet*. 2014 Nov 1; 23(21): 5733–5749.

Поступила в редакцию 10.02.2015