

УДК 57.053+612.352.122

## САХАРНЫЙ ДИАБЕТ: МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС

© 2011 г. И. Б. Заводник<sup>1, 2, \*</sup>, И. К. Дремза<sup>1</sup>, Е. А. Лапшина<sup>1</sup>, В. Т. Чешевиц<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Научно-производственный центр “Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси”,  
Бульвар Ленинского Комсомола, д. 50, 230017, Гродно, Беларусь;  
\*электронная почта: zavodnik\_il@mail.ru; тел.: +375 152 437935;  
факс: +375 152 434121

<sup>2</sup>Гродненский государственный университет имени Янки Купалы,  
ул. Э. Ожешко, д. 22, 230022, Гродно, Беларусь

Поступила в редакцию 08.08.2010 г.

Сахарный диабет – сложное полигенное заболевание, характеризующееся многочисленными метаболическими нарушениями. Прогрессирующая гипергликемия, которая развивается при этом заболевании, приводит к клинически выраженному повреждению тканей и считается наиболее важным фактором риска макро- и микрососудистых осложнений, приводящих к диабетической ретинопатии, нефропатии и нейропатии. Сопровождающие гипергликемию окислительный стресс и нарушение биодоступности оксида азота играют важную роль в патогенезе как сахарного диабета, так и его осложнений. Гомеостаз глюкозы, в поддержании которого участвует инсулин, включает высокий уровень поглощения глюкозы клетками скелетной мускулатуры и подавление продукции глюкозы в печени. M. Brownlee (2005) сформулировал положение об определяющей роли окислительного стресса в развитии сахарного диабета в виде гипотезы об унифицирующем механизме (a unifying mechanism), согласно которой дисфункция митохондрий и гиперпродукция супероксидных радикалов митохондриями представляет основной механизм активации повреждения тканей при сахарном диабете, связанный с гипергликемией. В основе метаболического гомеостаза глюкозы лежат два “зеркальных” клеточных сигнальных каскада: инсулинзависимое потребление глюкозы (IMGU, insulin-mediated glucose uptake) в клетках мышечной ткани, печени, сердца и стимулируемая глюкозой секреция инсулина (GSIS, glucose-stimulated insulin secretion) в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы. В дополнение к неспецифическому необратимому окислительному повреждению молекул ДНК, белков и липидов активные формы кислорода и азота вызывают опосредованное повреждение клеток и тканей, активируя ряд клеточных стресс-чувствительных сигнальных каскадов. Зависимое от окислительного стресса повышение степени фосфорилирования остатков серина в молекуле белка – субстрата рецептора инсулина (IRS) уменьшает способность IRS претерпевать фосфорилирование остатков тирозина и может ускорять его деградацию, что лежит в основе развития индуцируемой стрессом резистентности к инсулину.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, инсулин, клеточная сигнализация, окислительный стресс, митохондрии.

### ПАТОБИОЛОГИЯ ГИПЕРГЛИКЕМИИ. РОЛЬ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА

Инсулинзависимый и инсулиннезависимый сахарный диабет входят в число наиболее распространенных заболеваний современного общества. Учитывая угрожающий рост заболеваемости сахарным диабетом и цену, которую необходимо платить за поддержание здоровья общества, важно понять патофизиологические механизмы этих заболеваний и причины столь угрожающего их распространения, а также разработать меры, позволяющие предотвратить распространение патологии.

Сахарный диабет представляет собой сложное полифункциональное заболевание, характеризу-

ющееся многообразными метаболическими нарушениями. Эпидемиологические исследования подтверждают, что причиной клинически регистрируемого повреждения тканей при сахарном диабете является прогрессирующая гипергликемия [1], наиболее важный фактор риска последующих макро- и микрососудистых осложнений, приводящих к диабетической ретинопатии, нефропатии, нейропатии. Сопровождающие гипергликемию окислительный стресс и нарушение доступности оксида азота играют важную роль в патогенезе как сахарного диабета, так и его осложнений [2, 3]. Механизмы, приводящие к образованию активных форм кислорода (АФК) и азота и к окислительному стрессу, включают метаболический стресс, обусловленный нарушени-

ем энергетического обмена клетки, аутоокисление глюкозы [3, 4], синтез провоспалительных медиаторов, неферментативное гликозилирование белков и липидов. Необходимо подчеркнуть, что повреждения тканей при сахарном диабете определяются процессами, происходящими на молекулярном и клеточном уровнях. Так, развитие сахарного диабета типа 1 и его проявления связаны с дисфункцией  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и нарушением секреции инсулина, тогда как при сахарном диабете типа 2 изменяется чувствительность рецепторов клеток-мишеней к инсулину (резистентность к инсулину) и нарушается потребление глюкозы тканями.

Следует отметить, что наиболее распространенные хронические неинфекционные заболевания, такие как рак, сахарный диабет, сердечно-сосудистые и нейродегенеративные заболевания, — это возрастные, многофакторные, полигенные заболевания, часто имеющие значительный неферментативный, неметаболический, химический компонент [5].

**Метаболические эффекты гипергликемии.** Гомеостаз глюкозы, поддерживаемый инсулином, включает рост поглощения глюкозы скелетной мускулатурой и подавление продукции глюкозы в печени. M. Brownlee сформулировал положение о роли окислительного стресса в развитии сахарного диабета в виде гипотезы об унифицирующем механизме (a unifying mechanism), согласно которой дисфункция митохондрий и гиперпродукция супероксидных радикалов митохондриями представляет основной механизм активации связанных с гипергликемией метаболических путей повреждения тканей при сахарном диабете [1]. Хронические поражения тканей, развивающиеся при сахарном диабете и подобных заболеваниях, включают как окислительную модификацию белков, ДНК и липидов АФК и азота, так и химическую модификацию белков (и не только) продуктами окисления сахаров и липидов. При этом образуются конечные продукты гликозилирования (гликоксидации) и липоксидации (advanced glycation/glucosidation and lipoxidation end products, AGE/ALE) [6]. Повышение уровня глюкозы индуцирует метаболические и физиологические сигналы, механизмы которых одинаковы в поджелудочной железе и в периферических тканях, но результаты различны, благодаря функциональной специализации тканей [7].

Транспорт глюкозы в клетку, обеспечиваемый тканеспецифичными транспортерами, не является скоростью-лимитирующим процессом. Следующий шаг метаболизма глюкозы — ее фосфорилирование тканеспецифичными глюкокиназами. В  $\beta$ -клетках глюкокиназа (или гексокиназа IV) активируется при связывании с порообразующим белком во внешней митохондриальной мембране

(в месте контакта внешней и внутренней митохондриальной мембран). Подобный механизм активации гексокиназы II существует в скелетной мышце и жировой ткани. Активация гексокиназы зависит от структуры поры, которая является потенциал-зависимой и регулируется электрическим потенциалом внутренней митохондриальной мембраны. Дефекты дыхательной цепи, приводящие к деполяризации митохондриальной мембраны, могут быть связаны с нарушениями активности ферментов, фосфорилирующих глюкозу. Взаимодействие гексокиназы с контактными участками митохондриальной мембраны и ее активация приводят к росту содержания ADP и глюкозо-6-фосфата (G-6-P). ADP прямо поступает в митохондрии, стимулируя окислительное фосфорилирование. G-6-P представляет собой важнейший интермедиат энергетического метаболизма, располагаясь на ключевой позиции переключения реакций между гликолизом, синтезом гликогена, пентозофосфатным путем. Гликолиз сопряжен с реакциями митохондриального окислительного фосфорилирования, ускоряемыми при росте содержания глюкозы в крови, в трех точках: посредством переноса NADH к комплексу I дыхательной цепи через переносчик малат/аспартат, посредством переноса FADH<sub>2</sub> к комплексу II через глицерофосфат/гидроксиацетон-фосфатный цикл, с участием гексо(глюко)киназ, поставляющих ADP комплексу V (АТФ-синтазе). Переносчик фосфокреатина, присутствующий в клетках головного мозга и мышц, также может быть вовлечен в индуцируемый глюкозой сигнальный каскад, завершающийся секрецией инсулина  $\beta$ -клетками. Взаимодействие между креатинкиназой, связанной с плазматической мембраной, и митохондриальной креатинкиназой обеспечивает локальное повышение концентрации АТФ вблизи АТФ-зависимых ионных каналов. Это приводит к росту цитозольной и даже внутримитохондриальной концентрации кальция и, в конечном итоге, к секреции инсулина. Таким образом, в  $\beta$ -клетках глюкоза посредством мембраносвязанной глюкокиназы стимулирует синтез фосфокреатина в митохондриях. Подобная последовательность сигналов используется в мышечных тканях в обратном направлении, когда при физической нагрузке уровень креатина увеличивается за счет высокой скорости обмена АТФ, что, в свою очередь, стимулирует синтез АТФ в митохондриях и фосфорилирование глюкозы гексокиназой. Более того, взаимное влияние цитозоля и митохондрий способствует активации синтеза гликогена из глюкозы. Активность связанной с митохондриями гексокиназы обеспечивает синтез G-6-P и стимулирует продукцию UTP с участием митохондриальной нуклеозиддифосфаткиназы [7].

Патофизиологически выделяют по меньшей мере две формы сахарного диабета, различающи-

еся энергетическим метаболизмом. Первая форма обусловлена точечной мутацией гена глюкокиназы, тогда как вторая представлена несколькими формами митохондриального диабета, в основе которого лежат мутации митохондриальной ДНК (мтДНК), кодирующей ряд субъединиц комплексов дыхательной цепи митохондрий. мтДНК весьма чувствительна к повреждениям и накапливает мутации при старении [7]. В основе сахарного диабета типа 2 (как и метаболического синдрома) лежит устойчивость тканей к действию инсулина — нарушение способности гормона подавлять выброс глюкозы клетками печени и обеспечивать периферическое потребление глюкозы (peripheral glucose disposal), а также неспособность маскировать относительную недостаточность функции  $\beta$ -клеток.

При диабетической гипергликемии активируются четыре основных метаболических процесса, играющих важную роль в повреждении клеток [1].

1) Полиольный метаболический путь; гипергликемия приводит к повышению скорости ферментативного превращения глюкозы в многоатомный спирт (полиол) сорбит (альдозоредуктаза, первый и лимитирующий скорость фермент полиольного метаболического пути, катализирует восстановление глюкозы в сорбит). Сорбит метаболизируется до фруктозы с участием сорбитдегидрогеназы, увеличивая соотношение  $NADH/NAD^+$ . Активность этого альтернативного пути существенно возрастает в присутствии высоких концентраций глюкозы — субстрата гексокиназы, отвечающей за превращение глюкозы в G-6-P, при этом резко увеличивается доступность глюкозы для альдозоредуктазы [8]. В этих условиях медленно метаболизируемый и медленно диффундирующий через клеточные мембраны сорбит накапливается в клетке, приводя к нарушению клеточного гомеостаза и развитию многих отдаленных осложнений сахарного диабета [9, 10].

2) Нарработка конечных стабильных продуктов гликозилирования (или гликооксидации, advanced glycation end product, AGE), их аутоокисление и взаимодействие с клеточными рецепторами; редуцирующие сахара (глюкоза, G-6-P, фруктоза), обладающие альдегидными группами, взаимодействуют со свободными аминогруппами, в том числе белков, образуя обратимые основания Шиффа. Медленная перегруппировка Аматори оснований Шиффа приводит к формированию AGE. В результате модифицируются структура и функции белков, что вызывает устойчивые повреждения клетки. Более того, клетки содержат специфические рецепторы к AGE [11].

3) Активация изоформ протеинкиназы C (protein kinase C, PKC); в процессе метаболизма глю-

козы возможно повышение скорости синтеза жирных кислот и образования сигнальных молекул — производных липидов, например диацилглицерина (DAG), потенциальных активаторов PKC [12].

4) Увеличение потока глюкозы через гексоаминовый путь; ряд токсических эффектов глюкозы связан с биосинтезом гексоаминов, продуктов одного из дополнительных путей метаболизма глюкозы [13], активируемого при гипергликемии. В норме через гексоаминовый путь метаболизируется 2–5% глюкозы, поступающей в клетку. Гексоаминовый путь начинается с катализируемого глутамин:фруктозо-6-фосфат-аминотрансферазой превращения фруктозо-6-фосфата в глюкозамин-6-фосфат [14]. Конечный продукт этого метаболического пути — UDP-N-ацетилглюкозамин участвует в гликозилировании ряда внутриклеточных белков, в частности факторов транскрипции, т.е. он способен влиять на транскрипцию ряда генов [15].

АФК, генерируемые при гипергликемии, могут подавлять активность глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы, приводя к накоплению промежуточных продуктов гликолитического пути. Один из таких метаболитов, глицеральдегид-3-фосфат (наряду с фруктозо-6-фосфатом), значительно усиливает образование AGE. Диацилглицерин/PKC-зависимый сигнальный путь стимулирует гексоаминовый путь [16]. При этом избыточное образование АФК электронтранспортной цепью митохондрий, стимулируемое возросшим потоком глюкозы, утилизируемой в цикле Кребса (и увеличением концентрации доноров электронов  $NADH$  и  $FADH_2$ ), можно рассматривать как общий механизм, в котором объединены перечисленные независимые биохимические процессы [1].

**Сахарный диабет и стресс-зависимые сигнальные каскады.** Гипергликемия активирует не только хорошо охарактеризованные биохимические процессы, такие как формирование стабильных продуктов гликозилирования и их взаимодействие с соответствующими рецепторами [17], полиольный путь [18], но стимулирует и ряд стресс-зависимых сигнальных каскадов, участвующих в повреждении клеток и приводящих к развитию отдаленных осложнений при сахарном диабете [19]. Наиболее хорошо изучен сигнальный каскад, связанный с фактором транскрипции NF- $\kappa$ B [20] — мишенью АФК, гипергликемии и окислительного стресса. NF- $\kappa$ B регулирует экспрессию ряда генов, связанных с диабетическими осложнениями, атеросклерозом, и обеспечивающих воспалительный ответ, апоптоз. Активация NF- $\kappa$ B включает фосфорилирование и последующую деградацию его ингибиторной субъединицы (ингибиторный белок  $\kappa$ B, I $\kappa$ B). I $\kappa$ B фосфорилируется соответствующей протеинсеринкиназой,

действующей “выше” сигнального каскада (IκB kinase β, ИКК-β). N-концевые Jun-киназы (NH<sub>2</sub>-terminal Jun kinase, JNK)/стресс-активируемые протеинкиназы (SAPK) принадлежат к сложному суперсемейству митоген-активируемых сериновых/треониновых протеинкиназ (МАРК). Это суперсемейство, включающее также p38 МАРК, состоит из стресс-активируемых протеинкиназ, чувствительных к разнообразным экзогенным и эндогенным стрессовым стимулам, в том числе гипергликемии, АФК, противовоспалительным цитокинам [21].

Активация сигнальных каскадов, включающих разнообразные стресс-чувствительные серин/треонинкиназы, например ИКК-β, приводит к фосфорилированию многочисленных клеточных мишеней, в том числе рецептора инсулина (IR) и белка-субстрата рецептора инсулина (IRS, insulin receptor substrate), включая IRS-1 и IRS-2 [22]. Фосфорилирование определенных остатков серина/треонина в молекулах IR и IRS резко уменьшает степень стимулированного инсулином фосфорилирования остатков тирозина в этих белках [23]. Соответственно, последующая ассоциация с сигнальными молекулами, лежащими “ниже” сигнального каскада, и их активация (в первую очередь, это фосфоинозитид-3-киназа, phosphoinositide 3-kinase, PI3K) будут нарушены. (PI3K – липидкиназа, фосфорилирующая фосфатидилинозит-4,5-бисфосфат с образованием фосфатидилинозит-3,4,5-трисфосфата). В результате уменьшится ответ на инсулин (устойчивость к инсулину) [24]. Соответственно, антиоксиданты и фармакологические агенты, блокирующие стресс-чувствительные протеинкиназы, могут рассматриваться в качестве потенциальных терапевтических средств, предупреждающих развитие устойчивости к инсулину [25]. Ранее на модели экспериментального стрептозотоцинового диабета (сахарный диабет типа 1) у крыс мы показали, что гормон эпифиза мелатонин способен проявлять свойства эффективного прямого и непрямого антиоксиданта и предотвращать связанное с гипергликемией ингибирование глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и транскетолазы в печени и регулировать уровень оксида азота [26].

Молекулярной мишенью АФК в клетке служат также протеинтирозинфосфатазы (protein tyrosine phosphatase, РТР), в норме действующие как отрицательные регуляторы инсулина, катализируя дефосфорилирование IR и IRS.

Определяющую роль в сложных метаболических нарушениях, связанных с резистентностью клеток к инсулину, сахарным диабетом типа 2 и метаболическим синдромом, играют рецепторы, активируемые фактором пролиферации пероксисом (peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR). Рецепторы PPAR принадлежат семейству

ядерных рецепторов гормонов, функционирующих как активируемые лигандами факторы транскрипции. Семейство рецепторов PPAR, включающее PPAR-α, PPAR-γ и PPAR-δ, представлено рецепторами, активируемыми жирными кислотами и их метаболитами, регулирующими индукцию пероксисомных ферментов. PPAR играют важную роль в регуляции активности генов, обеспечивающих метаболизм глюкозы, жирных кислот, холестерина. PPAR-α и PPAR-γ также вовлечены в противовоспалительные эффекты. Специфическая фармакологическая коррекция активности PPAR-α, -β, -γ может использоваться в качестве нового перспективного подхода к терапии сахарного диабета типа 2 и резистентности к инсулину [27].

### ИНСУЛИНЗАВИСИМЫЙ МЕХАНИЗМ ПОГЛОЩЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ

*Инсулинзависимый сигнальный каскад.* В основе метаболического гомеостаза глюкозы лежат два “зеркальных” сигнальных каскада: инсулинзависимое потребление глюкозы (IMGU, insulin-mediated glucose uptake) в клетках мышечной ткани, печени, сердца и стимулируемая глюкозой секреция инсулина (GSIS, glucose-stimulated insulin secretion) в β-клетках поджелудочной железы.

Ослабление клеточного ответа на взаимодействие инсулина с IR (устойчивость к инсулину) проявляется уменьшением способности инсулина стимулировать поглощение глюкозы, синтез гликогена, белков и липидов [28]. Инсулинзависимый сигнальный каскад регулирует уровень глюкозы в клетках и в плазме крови, его нарушения неизбежно приводят к развитию сахарного диабета. Метаболические эффекты инсулина обеспечивают гомеостаз обмена глюкозы, ускоряя потребление глюкозы скелетной мускулатурой и подавляя ее образование в ткани печени. Устойчивость (резистентность) к инсулину отражает снижение способности клеток и тканей реагировать на физиологический уровень инсулина. Генетические факторы, окружающая среда, возраст, стресс вносят свой вклад в развитие устойчивости к инсулину. Нарушения метаболизма глюкозы и липидов приводят к дефектам в механизмах передачи инсулинового сигнала и к разнообразным патологическим состояниям.

Канонический сигнальный каскад инсулина инициируется взаимодействием инсулина с внеклеточной α-субъединицей IR (рис. 1). Это приводит к конформационному изменению β-субъединицы IR, обладающей собственной тирозинкиназной активностью и катализирующей аутофосфорилирование остатков тирозина β-субъединицы IR (мотив NPEY). Активированный IR фосфорилирует белки семейства IRS [29].

IRS фосфорилирует специфический SH2-домен протеинтирозинфосфатазы Shp2 и SH3-домен адапторного белка Grb-2. Активированная молекула Grb-2 стимулирует сигнальный каскад, связанный с малыми GTP-связывающими белками Ras (Ras-GTP-азы). При этом SH2-домен белка Grb-2 взаимодействует с адапторным белком Shc и активирует Sos, фактор обмена GTP, который связывается с Ras-GTP-азами и активирует их, ускоряя выброс GDP. Активация Ras вызывает активацию расположенного “ниже” сигнального каскада, который стимулирует протеинкиназу Raf и киназу MAPK, регулируемую внеклеточным сигналом (extracellular signal-regulated kinase, ERK). Эта MAPK-зависимая ветвь инсулинзависимого сигнального каскада регулирует клеточную активность (экспрессию генов, митоз, дифференцировку клеток и выживаемость клеток/апоптоз). Параллельно IRS активирует PI3K также при помощи взаимодействия с SH2-доменом белка, что сопровождается повышением внутриклеточной концентрации фосфатидинозитфосфатов (PIP<sub>2</sub> и PIP) и, в свою очередь, активирует PIP-зависимую протеинкиназу-1 (PDK-1). Далее активируется ряд протеинсеринкиназ, включая протеинкиназу B (Akt) и PKC. В результате этой последовательности реакций транспортер глюкозы GLUT4 переносится из цитоплазматических везикул в плазматическую клеточную мембрану (рис. 1, 2) [30].

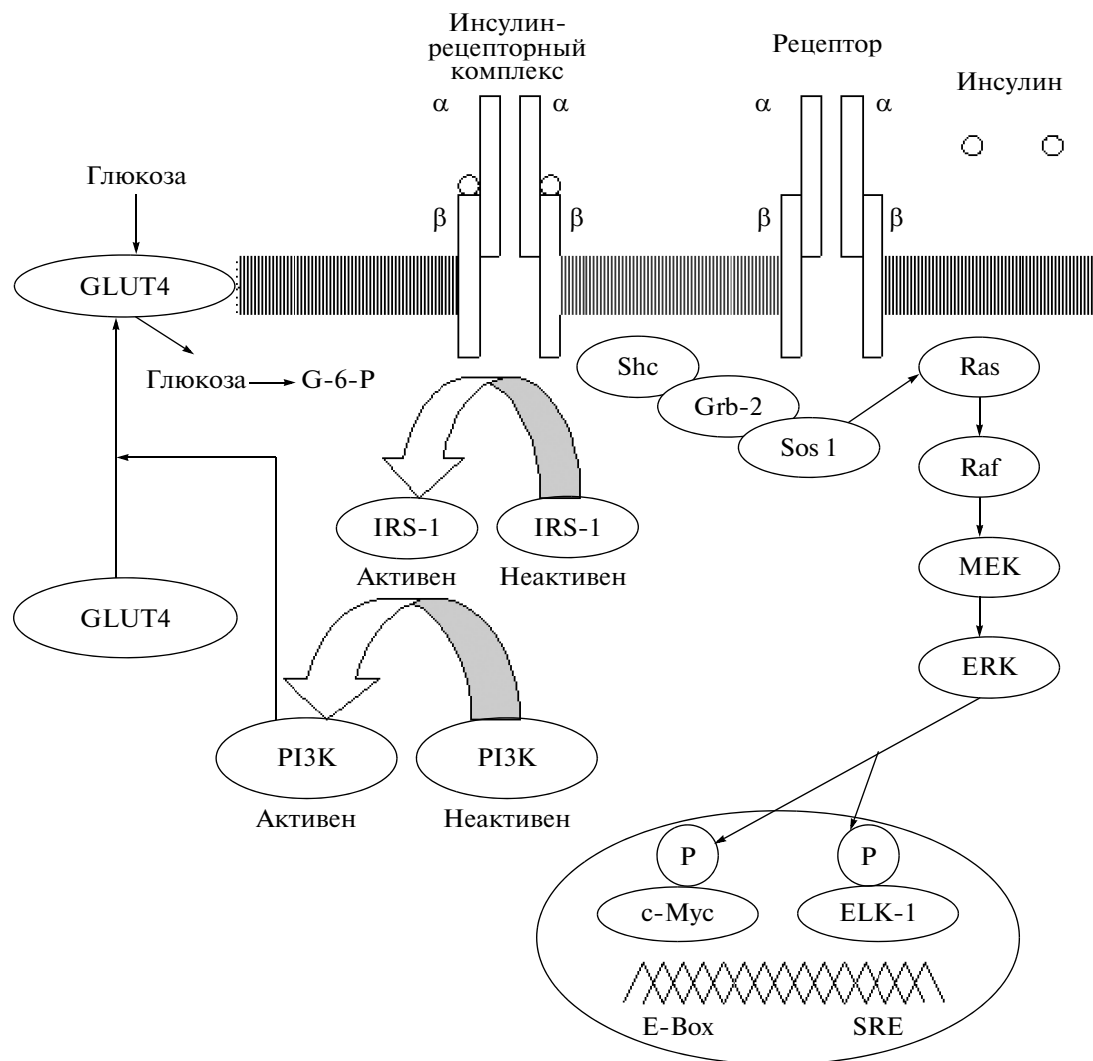
IR активирует изоформы PI3K, которые представляют гетеродимер, состоящий из каталитической (p110 $\alpha$ , p110 $\beta$ , p110 $\delta$ ) и регуляторной (p85 $\alpha$ , p55 $\alpha$ , p50 $\alpha$ , p55 $\gamma$ , p85 $\beta$ ) субъединиц [31]. Перечисленные сигнальные пути, приводящие к фосфорилированию разнообразных белков цитоплазмы и факторов транскрипции, нужны для выполнения инсулином своих метаболических функций. Сигнальный каскад инсулина представляет весьма сложную сеть реакций со множеством обратных связей и взаимодействий с другими важнейшими сигнальными каскадами [32]. Важно, что функции инсулинзависимого сигнального каскада в сердечной и скелетной мускулатуре, в печени и клетках эндотелия сосудов сходны, но биологические ответы на них весьма различны и тканеспецифичны (рис. 2) [30, 33, 34].

**Регуляция синтеза и распада гликогена.** Один из ключевых ферментов, регулирующих уровень глюкозы в клетках печени, – фосфорилаза (гликогенфосфорилаза). Гликогенфосфорилаза и гликогенсинтаза – два основных фермента, контролирующих метаболизм гликогена (гликогенез и гликогенолиз). Гликоген печени в значительной степени обеспечивает поддержание физиологических концентраций глюкозы. Молекула гликогена состоит из остатков глюкозы, связанных  $\alpha$ -1,4-гликозидными связями, которые фосфорилаза специфично расщепляет (основной путь распада гликогена в животной клетке). Активная

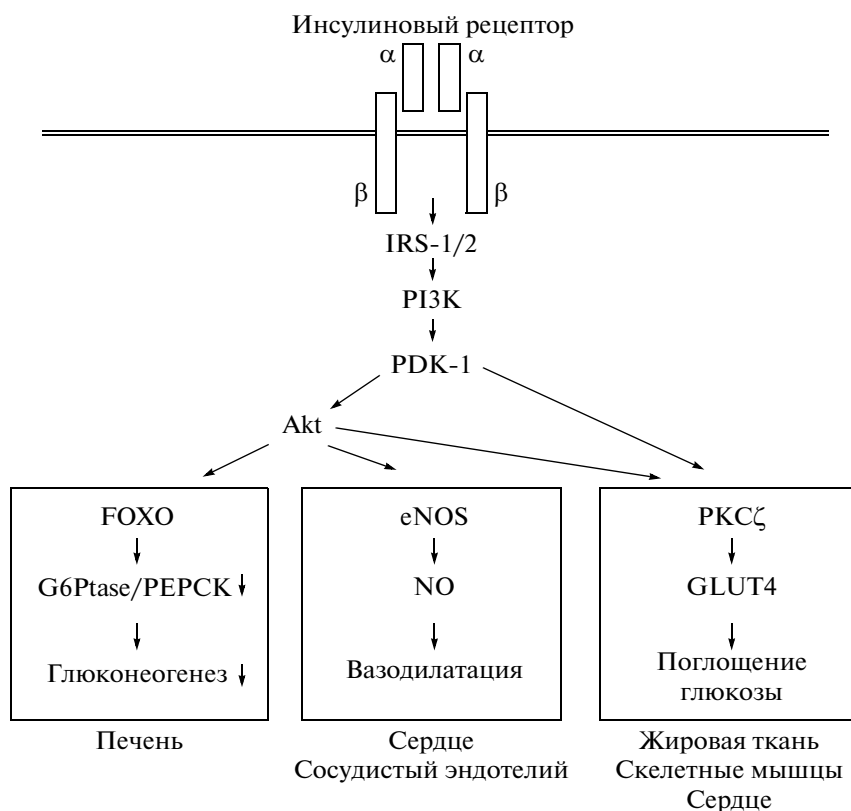
фосфорилаза (фосфорилаза *a*) – это фосфорилированный тетрамер. Специфическая протеинфосфатаза превращает фосфорилазу *a* в неактивную фосфорилазу *b* (димерная молекула), катализируя гидролитическое отщепление фосфата от остатка серина. Обратный переход неактивной фосфорилазы *b* в активную фосфорилазу *a* катализирует киназа фосфорилазы (фосфорилирование фермента). G-6-P и АТФ стабилизируют неактивное состояние фосфорилазы *b*.

Активация киназы фосфорилазы *b* осуществляется в результате ее фосфорилирования протеинкиназой. Протеинкиназа активируется сАМР, который индуцирует распад неактивной тетрамерной молекулы фермента с высвобождением каталитических субъединиц. Протеинфосфатазы, дефосфорилирующие ферменты, отменяют соответствующие эффекты протеинкиназ. Ключевую роль в регуляции обмена гликогена играет протеинфосфатаза I (PPI). (PPI состоит из трех субъединиц: каталитической, R<sub>G1</sub> – субъединицы с высоким сродством к гликогену, и ингибитора I – малой регуляторной субъединицы). PPI инактивирует киназу фосфорилазы и фосфорилазу *a*, дефосфорилируя эти ферменты, тем самым уменьшая скорость распада гликогена. Более того, PPI дефосфорилирует неактивную гликогенсинтазу *b*, переводя ее в активную форму, что усиливает синтез гликогена. PPI – это фермент, регулирующий процесс резервирования гликогена. Ингибирование PPI осуществляет малая регуляторная субъединица – ингибитор I, фосфорилирование которой подавляет активность всего фермента. Фосфорилирование ингибитора I протеинкиназой А блокирует каталитическую субъединицу протеинфосфатазы I. Протеинкиназа А активируется по каскадному механизму глюкагоном или адреналином.

В свою очередь, инсулин стимулирует синтез гликогена, активируя PPI. Взаимодействие инсулина с рецептором – тирозинкиназой, сопровождается волной фосфорилирования разнообразных белков-мишеней, активацией инсулин-чувствительной протеинкиназы, и фосфорилированием протеинфосфатазы I в участке, отличном от места фосфорилирования протеинкиназой А. В результате фосфорилирования фермент связывается с молекулой гликогена. Дефосфорилирование гликогенсинтазы, киназы фосфорилазы и фосфорилазы приводит к усиленному синтезу гликогена и прекращению его распада. Содержание активной фосфорилазы *a* в ткани печени быстро уменьшается после повышения уровня глюкозы в крови. Глюкоза связывается и ингибирует гликогенфосфорилазу *a* в ткани печени, сдвигая равновесие от активного состояния к неактивному и облегчая взаимодействие фермента с протеинфосфатазой I. В норме на 10 молекул фосфорилазы *a* приходится одна молекула протеинфосфатазы I [35].



**Рис. 1.** Сигнальный каскад инсулина включает следующую последовательность реакций: взаимодействие инсулина с соответствующим рецептором; активация субстрата 1 и 2 рецептора инсулина (insulin receptor substrate-1/2, IRS-1/2); активация фосфатидилинозит-3-киназы, вызывающая транслокацию транспортера GLUT4 из внутриклеточного пространства в плазматическую мембрану мышечной клетки. Связывание инсулина на поверхности мембраны с  $\alpha$ -субъединицей IR приводит к аутофосфорилированию остатков тирозина  $\beta$ -субъединицы рецептора, обладающей собственной тирозинкиназной активностью, и увеличивает тирозинкиназную активность IR. В результате IRS-белки взаимодействуют в цитоплазме с рецепторами посредством SH2-доменов. Последующее фосфорилирование остатков тирозина IRS активированным рецептором приводит к активации сложного сигнального каскада, регулирующего такие важнейшие клеточные процессы, как экспрессия генов, рост и дифференцировка клеток поджелудочной железы. Белки семейства IRS, из которых в инсулин-чувствительных тканях важными являются IRS-1 и IRS-2, представляют белки-платформы (docking proteins), связывающиеся с IR. Адапторные, якорные белки, участвующие в сборке белковых комплексов, содержат SH2-домен, PH-домен (Pleckstrin homology domain), PTB-домен, узнающие определенные аминокислотные последовательности в белках-мишенях. SH2-домены (Src homology domain) распознают и связывают фосфорилированные тирозиновые остатки в пределах более длинного мотива (peptide motif) белка-мишени, PH-домены способны связывать фосфатидилинозитфосфаты,  $\beta\gamma$ -субъединицы гетеротримерных G-белков, PKC. Фосфорилирование многочисленных остатков тирозина в С-области белков IRS приводит к формированию высокоспецифических центров связывания ряда сигнальных белковых молекул, содержащих SH2-домены. Центральная инсулинзависимая сигнальная молекула, взаимодействующая с IRS и приводящая к метаболическим эффектам инсулина, – фосфатидилинозит-3-киназа (PI3K) – состоит из каталитической и регуляторной субъединиц (p110 и p85 соответственно). Активированный белок IRS, обладающий также PH-доменом, способным связывать продукты реакций фосфорилирования/дефосфорилирования различных центров кольца инозита, взаимодействует с SH2-доменом каталитической субъединицы PI3K, что сопровождается возрастанием активности каталитической субъединицы p110 липидкиназы [55, 56]. Рост каталитической активности резко повышает внутриклеточное содержание фосфатидилинозит-3,4-бисфосфата (PIP<sub>2</sub>) и фосфатидилинозит-3,4,5-трисфосфата (PIP<sub>3</sub>). В настоящее время идентифицировано множество мишеней PI3K, расположенных “ниже” сигнального каскада, в частности, такие серин/треонинкиназы, как фосфоинозитид-зависимая протеинкиназа, PKB, PKC, p70S6-киназа, киназа гликогенсинтазы [29, 30].



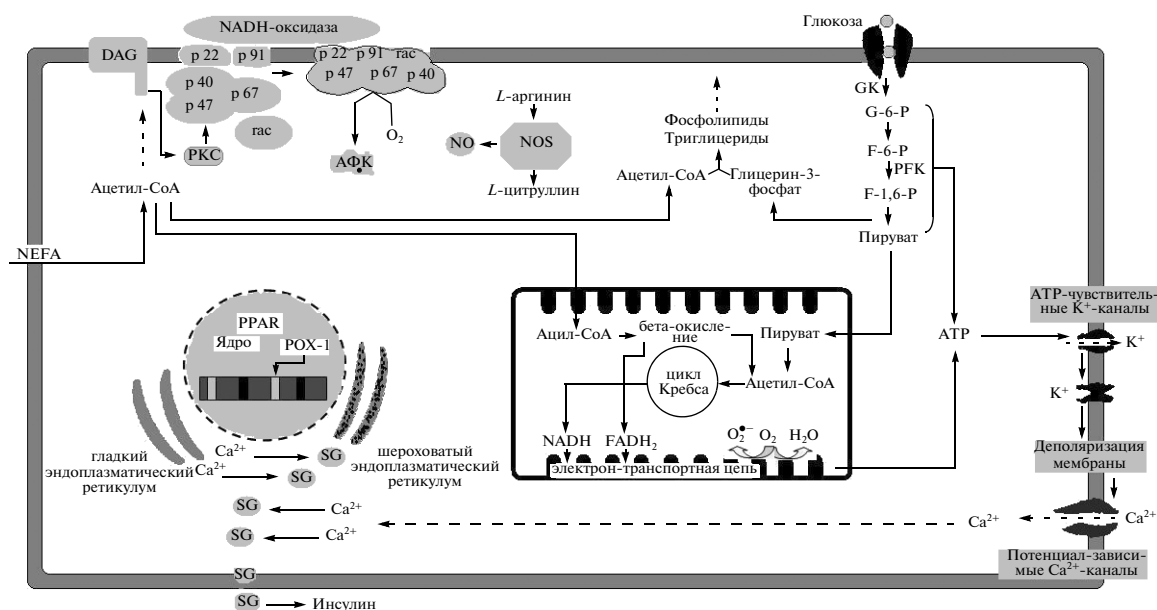
**Рис. 2.** Инсулинзависимый сигнальный каскад. Метаболическая PI3K-зависимая ветвь каскада определяет зависящие от типа ткани эффекты инсулина: глюконеогенез в печени, продукцию NO в клетках эндотелия и сердца, потребление глюкозы скелетной мускулатурой, жировой тканью, тканью сердца [30, 34]. PDK-1 – 3-фосфоинозитид-зависимая протеинкиназа 1; FOXO – факторы транскрипции, входящие в большое семейство белков с консервативным ДНК-связывающим доменом forkhead box (FOX) и регулирующие многие клеточные процессы. Транскрипционная активность белков регулируется инсулином и/или инсулиноподобным фактором роста (IGF). PEPCK – фосфоенолпируваткарбоксикиназа (фермент, участвующий в глюконеогенезе).

### РЕГУЛЯЦИЯ СЕКРЕЦИИ ИНСУЛИНА $\beta$ -КЛЕТКАМИ. РОЛЬ NADPH-ОКСИДАЗ

Ряд особенностей метаболизма глюкозы в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы исключительно важен для понимания роли этих клеток в поддержании гомеостаза глюкозы. Это, в первую очередь, высокая емкость системы транспорта глюкозы; отсутствие синтеза гликогена, жирных кислот и глюконеогенеза; критическая роль митохондриальных процессов, включая цикл трикарбоновых кислот, транспорт электронов, окислительное фосфорилирование; независимый от ионов  $Ca^{2+}$  индуцируемый глюкозой дыхательный взрыв; потенциал-зависимое поступление ионов  $Ca^{2+}$  как сигнал для секреции инсулина; аккумуляция малонил-КоА, ацил-КоА и диацилглицерина как метаболических факторов сопряжения [36]. Отсюда видно, что сложные метаболические реакции в  $\beta$ -клетках, обеспечивающие энергетический баланс и функционирование сигнальных каскадов, должны быть очень чувствительны к действию генетических факторов,

факторов окружающей среды, фармакологических агентов.

Как хорошо известно, глюкоза транспортируется через плазматические мембраны в инсулин-секретирующие  $\beta$ -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы специфическими переносчиками GLUT1 и GLUT2 и быстро фосфорилируется глюкокиназой (гексокиназой), обладающей высокой  $K_M$  к глюкозе (рис. 3) [37]. (Глюкокиназу можно рассматривать как ключевой фермент обмена глюкозы.) Процессы транспорта и фосфорилирования определяют скорость потока глюкозы, окисляемой в процессе гликолиза. Повышение скорости гликолиза в  $\beta$ -клетках приводит к росту содержания восстановительных эквивалентов в цитоплазме, активации челночного механизма переноса электронов в митохондриальный матрикс, что в конечном итоге стимулирует рост активности цикла трикарбоновых кислот и синтеза АТФ в митохондриях, а также увеличение отношения АТФ/АДР в цитоплазме. Подобным образом усиленное окисление свободных жирных кислот также приводит к росту отно-



**Рис. 3.** Стимулируемая глюкозой секреция инсулина (GSIS) [37]. Важнейшие элементы стимулируемой глюкозой секреции инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы: поступление глюкозы в клетку посредством транспортера глюкозы с высоким  $K_M$ ; фосфорилирование глюкозы представителями семейства гексокиназ (глюкокиназ) с высоким  $K_M$ ; метаболизм образуемого фруктозо-6-фосфата в гликолизе и цикле трикарбоновых кислот; рост отношения ATP/ADP; закрытие ATP-чувствительных  $K^+$ -каналов клеточной мембраны; деполяризация мембраны; открытие потенциал-чувствительных  $Ca^{2+}$ -каналов; поступление в клетку ионов  $Ca^{2+}$ , что включает освобождение инсулина [34, 37]. GK – глюкокиназа, G-6-P – глюкозо-6-фосфат, DAG – диацилглицерин, NEFA – неэтерифицированные жирные кислоты, PKC – протеинкиназа C, SG – секреторные гранулы, PFK – фосфофруктокиназа, F-1,6-P – фруктозо-1,6-фосфат, F-6-P – фруктозо-6-фосфат, NOS – NO-синтаза, PPAR – рецептор, активируемый фактором пролиферации пероксисом.

шения NADH/NAD внутри митохондрий. Возрастание уровня ATP в цитоплазме клетки сопровождается закрытием ATP-чувствительных  $K^+$ -каналов, уменьшая выход ионов  $K^+$ , что, в свою очередь, приводит к деполяризации плазматической мембраны, поступлению в клетку ионов  $Ca^{2+}$ , активации протеинкиназ и экзоцитозу инсулина (рис. 3) [37, 38]. Быстрое повышение внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$ , опосредуемое их входением через потенциал-чувствительные кальциевые каналы, представляет первичный механизм GSIS. Однако дальнейший рост внутриклеточной концентрации ионов  $Ca^{2+}$  может стимулировать генерацию АФК митохондриями, поскольку  $Ca^{2+}$ , активируя PKC, способен увеличивать зависящую от NADPH-оксидазы генерацию АФК митохондриями и, следовательно, увеличивать уровень окислительного стресса и/или индуцировать апоптотическую гибель клеток.

Следует напомнить, что NADPH-оксидазы играют основную роль в образовании АФК, обеспечивающих антимикробное действие специализированных фагоцитирующих клеток (например, макрофагов и нейтрофилов). “Классические” NADPH-оксидазы, традиционно ассоциируемые

с клетками иммунной системы, представлены, вероятно, рядом изоформ, среди которых выделяют большие семейства – NOX1, NOX2, NOX3. Функционирование этих изоформ зависит от ряда активаторов. Указанные ферментные комплексы катализируют реакцию одноэлектронного восстановления кислорода с образованием супероксид-аниона  $O_2^{\cdot-}$ , используя NADPH как донор электронов. Интегральные мембранные белки gp9phox и p22phox, а также p67phox, p47phox и p40phox, и малые GTP-азы (Rac1 или Rac2) необходимы для регуляции NADPH-оксидазной активности [39]. Активация фермента инициируется путем фосфорилирования сериновых или треониновых остатков субъединицы p47phox, катализируемого PKC, что приводит к переносу субъединиц фермента из цитозоля клетки в мембрану. При активации шесть субъединиц “классической” NADPH-оксидазы образуют активный комплекс, продуцирующий большое количество супероксидного аниона. Регуляция ферментативной активности достигается двумя способами:

1) разделением субъединиц оксидазы с различной внутриклеточной локализацией (цитозольной и мембраносвязанной),



2) модуляцией обратимых белок–белковых и белок–липидных взаимодействий.

Специфические изоформы  $O_2^{\cdot-}$  генерирующих NADPH-оксидаз (например, NOX1–3) представляют важнейший источник АФК в нефагоцитирующих клетках, включая панкреатические. При избытке АФК наблюдается не только повреждение клеток в результате неспецифического окисления ДНК, белков и липидов, но и активация ряда разнообразных индуцируемых стрессом внутриклеточных сигнальных каскадов, таких как NF-kB, p38 MAPK, JNK/SAPK, гексоаминовый и другие сигнальные пути. Активация этих каскадов приводит к возрастанию экспрессии продуктов многочисленных генов, что может быть причиной повреждения клетки и играть важную роль в этиологии многих заболеваний, в том числе, в развитии отдаленных осложнений сахарного диабета. Результаты исследований *in vivo* и *in vitro* подтверждают, что активация многих стресс-зависимых сигнальных путей приводит к потере чувствительности клеток к инсулину и нарушению секреции инсулина. Соответственно, предполагают, что существует взаимосвязь между гипергликемией, уровнем свободных жирных кислот, генерацией АФК, окислительным стрессом, активацией стресс-зависимых сигнальных путей, развитием резистентности к инсулину, дисфункцией  $\beta$ -клеток и отдаленными осложнениями сахарного диабета [37, 40].

В то же время на многочисленных примерах доказано участие “не повреждающего” физиологического уровня АФК в трансдукции клеточных сигналов, регуляции клеточного роста и программируемой гибели клеток, кальциевой сигнализации, экспрессии генов [41], иммунного ответа [42, 43].

#### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ИНСУЛИНУ

Центральную роль в развитии целого ряда метаболических нарушений и заболеваний, таких как сахарный диабет типа 2, ожирение, метаболический синдром, играет устойчивость тканей к действию инсулина. Определяющий фактор в развитии этой патологии – повышенный уровень глюкозы и свободных жирных кислот в плазме крови и окислительный стресс в клетках и тканях [44]. В норме активация инсулиновых рецепторов в клетках инсулин-чувствительных тканей (мышечная, жировая) стимулирует окисление глюкозы по гликолитическому пути. Устойчивость к инсулину, однако, приводит к нарушению инсулинзависимого поглощения глюкозы. Существуют многочисленные подтверждения того, что воздействие окислительного стресса на внутриклеточные сигнальные каскады вызывает развитие

воспалительных процессов, резистентности клеток к инсулину и т.д. [1, 45, 46].

В дополнение к неспецифическому необратимому окислительному повреждению молекул ДНК, белков и липидов, активные формы кислорода и азота повреждают клетки и ткани опосредованно, активируя ряд стресс-чувствительных сигнальных каскадов. Эти каскады включают NF-kB, киназы p38 MAPK и JNK. Предполагают, что активация стресс-зависимых сигнальных каскадов при гипергликемии (и, возможно, при росте содержания свободных жирных кислот) играет существенную роль в развитии как осложнений сахарного диабета типа 1 и 2, так и резистентности тканей к инсулину при сахарном диабете типа 2 [28]. АФК в этом случае функционируют как сигнальные молекулы.

Дефекты в различных участках инсулинзависимого сигнального каскада рассматриваются как механизм развития резистентности к инсулину [47]. Можно выделить фосфорилирование сериновых остатков в молекулах IRS, деградацию IRS, активацию фосфатаз (например, фосфотирозинфосфатазы 1B), подавление активации сигнальных молекул, расположенных “ниже” инсулинового рецептора, включая Akt и атипичную PKC [48, 49].

Фосфорилирование определенных сериновых остатков IRS (серин/треонинкиназами) препятствует взаимодействию IRS с IR, что приводит к ингибированию фосфорилирования остатков тирозина в IRS и соответствующему подавлению PI3K. Фосфорилирование остатков серина в белках IRS-1/2 приводит к резистентности к инсулину благодаря уменьшению активности инсулинзависимого сигнального каскада, в том числе, за счет инактивации PI3K, Akt, PKC $\xi$ , и в результате снижает поглощение глюкозы клетками, повышает продукцию глюкозы, уменьшает вазодилатацию и секрецию инсулина [30]. Еще один потенциальный механизм развития резистентности к инсулину – активация провоспалительных сигнальных каскадов. Так, Toll-подобные-рецепторы, играющие ключевую роль в инициации иммунного ответа, стимулируют провоспалительный сигнальный каскад, активируя последовательно различные адапторные белковые молекулы. Адапторные белки активируют определенные киназы – IKK $\beta$  и JNK, что приводит к усилению сигнала и непосредственной индукции или супрессии определенных генов, управляющих иммунным ответом. В результате активации данного сигнального каскада стимулируется продукция ряда цитокинов, например интерлейкинов [50].

Дисфункция митохондрий, в результате которой возрастает уровень АФК, также активирует ряд серинпротеинкиназ, фосфорилирующих IRS, что приводит к резистентности к инсулину [51]. Более того,

активируя ИКК $\beta$ , АФК стимулируют провоспалительный сигнальный каскад, который фосфорилирует сериновые остатки IRS [52]. Дисфункция митохондрий способствует накоплению метаболитов жирных кислот, DAG и длинноцепочечных ацил-СоА [53]. DAG, в свою очередь, представляет аллостерический активатор РКС, также фосфорилирующей остатками серина в IRS-1, что приводит к нарушению способности IRS-1 рекрутировать и активировать PI3K и к подавлению инсулинового сигнала [30].

Окислительный стресс играет ключевую роль в нарушении инсулиновой сигнализации в клетках. Активация сигнального каскада JNK ингибирует экспрессию гена инсулина. Известны три изоформы JNK – JNK1, JNK2 и JNK3, из которых только JNK1, как предполагают, вовлечена в развитие сахарного диабета типа 2 [54]. Конечным результатом этого механизма является нарушение передачи сигнала для транслокации GLUT 4 к клеточной поверхности и, соответственно, нарушение инсулинзависимого поглощения глюкозы клетками [55, 56]. Знание механизмов резистентности к инсулину может стать основой для разработки фармакологических средств коррекции этой патологии. Использование антиоксидантов и фармакологических ингибиторов стресс-зависимых сигнальных каскадов – один из подходов в разработке указанных средств. Новой терапевтической стратегией может быть регуляция функционирования и биогенеза митохондрий. Эти новые подходы могут иметь значение для предотвращения развития резистентности к инсулину, дисфункции  $\beta$ -клеток, нарушений метаболизма глюкозы и липидов в печени, вазорелаксации [30].

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Brownlee M. 2005. Banting Lecture 2004. The pathobiology of diabetic complications. A unifying mechanism. *Diabetes*. **54**, 1615–1625.
2. Bojunga J., Dresar-Mayert B., Usadel K.-H., Kusteter K., Zeuzem S. 2004. Antioxidative treatment reverses imbalances of nitric oxide synthase isoform expression and attenuates tissue-cGMP activation in diabetic rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **316**, 771–780.
3. Wolff S.P., Dean R. T. 1987. Glucose autoxidation and protein modification: the potential role of “autoxidative glucosylation” in diabetes. *Biochem. J.* **245**, 243–250.
4. Wolff, S.P., Jiang Z.Y., Hunt J. V. 1991. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radic. Biol. Med.* **10**, 339–352.
5. Baynes J.W. 2004. The clinical chemome: A tool for the diagnosis and management of chronic disease. *Clin. Chem.* **50** (7), 1116–1117.
6. Thorpe S.R., Baynes J.M. 2002. Maillard reaction products in tissue proteins: new products and new perspectives. *Amino Acids*. **25**, 275–281.
7. Gerbitz K.D., Gempel K., Brdiczka D. 1996. Mitochondria and diabetes. Genetic, biochemical, and clinical implications of the cellular energy circuit. *Diabetes*. **45** (2), 113–126.
8. Beyer T.A., Hutson N.J. 1986. Introduction: Evidence for the role of the polyol pathway in the pathophysiology of diabetic complications. *Metabolism*. **35**, 1–3.
9. Hamada Y., Nishimura C., Koh N., Sakakibara F., Nakamura J., Tanimoto T., Hotta N. 1998. Influence of interindividual variability of aldose reductase protein content on polyol-pathway metabolites and redox state in erythrocytes in diabetic patients. *Diabetes Care*. **21**, 1014–1018.
10. Chung S.S., Chung S.K. 2003. Genetic analysis of aldose reductase in diabetic complications. *Curr. Med. Chem.* **10**, 1375–1387.
11. Ulrich P., Cerami A. 2001. Protein glycation, diabetes, and aging. *Recent Prog. Horm. Res.* **56**, 1–21.
12. Morgan D., Oliveira-Emilio H.R., Keane D., Hirata A.E., Santos da Rocha M., Bordin S., Curi R., Newsholme P., Carpinelli A.R. 2007. Glucose, palmitate and pro-inflammatory cytokines modulate production and activity of a phagocyte-like NADPH oxidase in rat pancreatic islets and a clonal  $\beta$  cell line. *Diabetologia*. **50**, 359–369.
13. Du X.L., Edelstein D., Rossetti L., Fantus I.G., Goldberg H., Ziyadeh F., Wu J., Brownlee M. 2000. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **97**, 12222–12226.
14. James L.R., Tang D., Ingram A., Ly H., Thai K., Cai L., Scholey J.W. 2002. Flux through the hexosamine pathway is a determinant of nuclear factor  $\kappa$ B-dependent promoter activation. *Diabetes*. **51**, 1146–1156.
15. Goldberg H.J., Whiteside C.I., Fantus I.G. 2002. The hexosamine pathway regulates the plasminogen activator inhibitor-1 gene promoter and Sp1 transcriptional activation through protein kinase C- $\beta$  I and - $\delta$ . *J. Biol. Chem.* **277**, 33833–33841.
16. Nisikawa T., Edelstein D., Du X. L., Yamagishi S., Matsumura T., Kaneda Y., Yorek M.A., Beebe D., Oates P.J., Hammes H.P., Giardino I., Brownlee M. 2000. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature*. **404**, 787–790.
17. Brownlee M. 1995. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. *Annu. Rev. Med.* **46**, 223–234.
18. Stevens M.J., Obrosova I., Feldman E.L., Greene D.A. 2000. The sorbitol-osmotic and sorbitol-redox hypothesis. *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*. Eds LeRoith D., Taylor S.I., Olefsky J.M. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, P. 972–983.
19. Barnes P.J., Karin M. 1997. Nuclear factor kappa B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N. Engl. J. Med.* **336**, 1066–1071.
20. Moxamed A.K., Bierhaus A., Schiekofer S., Tritschler H., Ziegler R., Nawroth P.P. 1999. The role of oxidative

- stress and NF- $\kappa$ B activation in late diabetic complications. *Biofactors*. **10**, 157–167.
21. Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M. 2003. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and  $\beta$ -cell dysfunction. *Diabetes*. **52**, 1–8.
  22. Evans J.L., Maddux B.A., Goldfine I.D. 2005. The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance. *Antioxid. Redox Signal*. **7**, 1040–1052.
  23. Birnbaum M.J. 2001. Turning down insulin signaling. *J. Clin. Invest*. **108**, 655–659.
  24. Aguirre V., Uchida T., Yenush L., Davis R., White M. F. 2000. The c-jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser (307). *J. Biol. Chem*. **275**, 9047–9054.
  25. Yuan M., Konstantopoulos N., Lee J., Hansen L., Li Z.W., Karin M., Shoelson S.E. 2001. Reversal of obesity- and diet-induced insulin resistance with salicylates or targeted disruption of IKK $\beta$ . *Science*. **293**, 1673–1677.
  26. Sudnikovich E.Ju., Maksimchik Yu.Z., Zabrodskaya S.V., Kubyshev V.L., Lapshina E.A., Bryszewska M., Reiter R.J., Zavodnik I.B. 2007. Melatonin attenuates metabolic disorders due to streptozotocin-induced diabetes in rats. *Eur. J. Pharmacol*. **569**, 180–187.
  27. Evans J.L., Lin J.J., Goldfine I.D. 2005. Novel approach to treat insulin resistance, type 2 diabetes, and the metabolic syndrome: simultaneous activation of PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  and PPAR $\delta$ . *Curr. Diabetes Rev*. **1**, 299–307.
  28. Evans J.L., Maddux B.A., Goldfine I.D. 2005. The molecular basis for oxidative stress-induced insulin resistance. *Antioxid. Redox Signal*. **7**, 1040–1052.
  29. Bevan P. 2001. Insulin signaling. *J. Cell Sci*. **114**, 1429–1430.
  30. Kim J., Wei Y., Sowers J.R. 2008. Role of mitochondrial dysfunction in insulin resistance. *Circ. Res*. **102**, 401–414.
  31. Cantley L.C. 2002. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science*. **296**, 1655–1657.
  32. Sedaghat A.R., Sherman A., Quon M.J. 2002. A mathematical model of metabolic insulin signaling pathways. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. **283**, 1084–1101.
  33. Sowers J.R. 2007. Insulin resistance and hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. **293**, 2009–2020.
  34. McGarry J.D. 2002. Banting Lecture 2001. Dysregulation of fatty acid metabolism in the etiology of type 2 diabetes. *Diabetes*. **51**, 7–18.
  35. Чиркин А.А., Данченко Е.А. 2010. *Биохимия: учебное пособие*. М.: Мед. лит., с. 223–235.
  36. Matschinsky F.M. 1996. Banting lecture 1995. A lesson in metabolic regulation inspired by the glucokinase glucose sensor paradigm. *Diabetes*. **45** (2), 223–241.
  37. Newsholme P., Haber E.P., Hirabara S.M., Rebelato E.L.O., Procopio J., Morgan D., Oliveira-Emilio H.C., Carpinelli A.R., Curi R. 2007. Diabetes associated cell stress and dysfunction: Role of mitochondrial and non-mitochondrial ROS production and activity. *J. Physiol*. **583** (1), 9–24.
  38. Newsholme P., Brennan L., Bender K. 2006. Amino acid metabolism,  $\beta$ -cell function, and diabetes. *Diabetes*. **55** (Suppl. 2), 39–47.
  39. Babior B.M. 1999. NADPH oxidase: an update. *Blood*. **93**, 1464–1476.
  40. Yoshioka N., Adachi J, Ueno Y., Yoshida K. 2005. Oxysterols increase in diabetic rats. *Free Radic. Res*. **39**, 299–304.
  41. Irani K. 2000. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival: A review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. *Circ. Res*. **87**, 179–183.
  42. Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T., Mazur M., Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease *Int. J. Biochem. Cell. Biol*. **39**, 44–84.
  43. Schoonbroodt S., Piette J. 2000. Oxidative stress interference with the nuclear factor- $\kappa$  B activation pathways. *Biochem. Pharmacol*. **60**, 1075–1083.
  44. Taylor A.J., Ye J.M., Schmitz-Peiffer C. 2006. Inhibition of glycogen synthesis by increased lipid availability is associated with subcellular redistribution of glycogen synthase. *J. Endocrinol*. **188**, 11–23.
  45. Fridlyand L.E., Philipson L.H. 2005. Oxidative reactive species in cell injury: Mechanisms in diabetes mellitus and therapeutic approaches. *Ann. NY Acad. Sci*. **1066**, 136–151.
  46. Katakam A.K., Chipitsyna G., Gong Q., Vancha A.R., Gabbeta J., Arafat H.A. 2005. Streptozotocin (STZ) mediates acute upregulation of serum and pancreatic osteopontin (OPN): A novel islet-protective effect of OPN through inhibition of STZ-induced nitric oxide production. *J. Endocrinol*. **187**, 237–247.
  47. Salniel A.R., Kahn C.R. 2001. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. **414**, 799–806.
  48. Zhande R., Mitchell J.J., Wu J., Sun X.J. 2002. Molecular mechanism of insulin-induced degradation of insulin receptor substrate 1. *Mol. Cell. Biol*. **22**, 1016–1026.
  49. Vinciguerra M., Foti M. 2006. PTEN and SHIP2 phosphoinositide phosphatases as negative regulators of insulin signaling. *Arch. Physiol. Biochem*. **112**, 89–104.
  50. Senn J.J. 2006. Toll-like receptor-2 is essential for the development of palmitate-induced insulin resistance in myotubes. *J. Biol. Chem*. **281**, 26865–26875.
  51. Morino K., Petersen K.F., Dufour S., Befroy D., Frattini J., Shatzkes N., Neschen S., White M.F., Bilz S., Sono S., Pypaert M., Shulman G.I. 2005. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of type 2 diabetic parents. *J. Clin. Invest*. **115**, 3587–3593.
  52. Nishikawa T., Araki E. 2007. Impact of mitochondrial ROS production in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. *Antioxid. Redox. Signal*. **9**, 343–353.

53. Itani S.I., Ruderman N.B., Schmedier F., Boden G. 2002. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and IkappaB-alpha. *Diabetes*. **51**, 2005–2011.
54. Hirosumi J., Tuncman G., Chang L., Gorgun C.Z., Uysal K.T., Maeda K., Karin M., Hotamisligil G.S. 2002. A central role for JNK in obesity and insulin resistance. *Nature*. **420**, 333–336.
55. Burks D.J., White M.F. 2001. IRS proteins and  $\beta$ -cell function. *Diabetes*. **50** (Suppl. 1), 140–145.
56. Paris M., Bernard-Kargar C., Vilar J., Kassis N., Ktorza A. 2004. Role of glucose in IRS signaling in rat pancreatic islets: Specific effects and interplay with insulin. *Exp. Diabetes Res.* **5**, 257–263.

## Diabetes Mellitus: Metabolic Effects and Oxidative Stress

I. B. Zavodnik<sup>1,2</sup>, I. K. Dremza<sup>1</sup>, E. A. Lapshina<sup>1</sup>, V. T. Cheshchevik<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Pharmacology and Biochemistry, National Academy of Sciences of Belarus, BLK, 50, Grodno, 230017 Belarus; tel.: +375 152 437935;*

*fax: +375 152 434121; e-mail: zavodnik\_il@mail.ru*

<sup>2</sup>*Department of Biochemistry, Yanka Kupala State University, ul. Oszeshko, 22, Grodno, 230022 Belarus*

Diabetes is a complex polyfunctional pathology, which is characterized by numerous metabolic disorders. Epidemiological studies confirmed that progressive hyperglycemia is an initial cause of diabetic tissue damage and a main risk factor of micro- and macrovascular complications leading to retinopathy, nephropathy, and neuropathy. Hyperglycemia-dependent oxidative stress and impairments in nitric oxide bioavailability play an essential role in the pathogenesis of diabetes and its long-term complications. Homeostasis of glucose maintained by metabolic effects of insulin includes an increase of glucose uptake by skeletal muscles and suppression of glucose production by the liver. M. Brownly (2005) put forward a concept assuming that oxidative stress is the main mechanism of diabetic tissue damages. According to this hypothesis, mitochondrial dysfunction and superoxide anion radical hyperproduction by mitochondria is the principal mechanism of activation of four pathways of hyperglycemia-induced impairments under diabetes. Two cell signaling cascades regulate the metabolic glucose homeostasis: insulin-mediated glucose uptake (IMGU) in skeletal muscles, liver, and heart and glucose-stimulated insulin secretion (GSIS) in pancreatic  $\beta$ -cells. In addition to nonspecific irreversible oxidative damage of DNA, protein and lipid molecules reactive oxygen and nitrogen species induce cell and tissue impairments, activating a number of cell stress-sensitive signaling cascades. Stress-dependent serine phosphorylation of insulin receptor substrate (IRS) proteins decreases its capacity for tyrosine phosphorylation and may accelerate degradation of IRS. This process underlies the molecular mechanism of oxidative stress-induced insulin resistance.