REVIEW

Механизмы транскрипционного контроля обмена глюкозы в печени

© Кулебякин К.Ю., Акопян Ж.А., Кочегура Т.Н., Пеньков Д.Н.

ГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

Ключевую роль в регуляции и поддержании стабильного уровня глюкозы в крови играет печеночная ткань. В связи с этим именно печень как основной орган глюконеогенеза находится под постоянным гормональным контролем, определяющим метаболическую программу в гепатоцитах. Хотя гормональные сигналы и запускают множественные посттрансляционные регуляторные механизмы, изменяющие активность ключевых ферментов обмена глюкозы, важнейшую роль в долговременном контроле процессов продукции и распада глюкозы играет претрансляционная регуляция на уровне экспрессии генов метаболических ферментов. Появляется все больше данных, что именно эта регуляция, реализуемая через контроль активности транскрипционных факторов, обеспечивает постоянную подстройку организма под меняющиеся внешние условия, и именно ее нарушение приводит к развитию метаболических заболеваний, связанных с инсулиновой резистентностью. Таким образом, изучение транскрипционных факторов, регулирующих обмен глюкозы в печени, и поиски механизмов их контроля приобретают важное биомедицинское значение в контексте поиска путей лечения метаболических заболеваний.
Ключевые слова: *глюконеогенез; гликолиз; транскрипционные факторы; гепатоциты*

Mechanisms of transcriptional control of glucose metabolism in hepatocytes

Konstantin Y. Kulebyakin , Janna A. Akopyan, Tatyana N. Kochegura, Dmitriy N. Penkov.

Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

The hepatic tissue plays a key role in the regulation and maintenance of stable blood glucose levels. The liver is the main gluconeogenesis organ of the body and is under constant hormonal control to determine the metabolic activity of hepatocytes. Hormonal signals trigger multiple post-translational regulatory mechanisms that alter the activity of key enzymes of glucose metabolism. A crucial role in the long-term control of glucose production and metabolism is played by pre-translational regulation at the level of gene expression of metabolic enzymes. There is growing evidence that this regulation, which is realised via control of the activity of transcription factors, provides constant adjustment of the body to changing environmental conditions and that its disruption leads to the development of metabolic diseases associated with insulin resistance. Therefore, the study of transcription factors that regulate glucose metabolism in the liver and the search for mechanisms to control them is of great biomedical importance in the context of metabolic disease treatment research.
Keywords: *gluconeogenesis; glycolysis; transcription factors; hepatocytes*

CC BY-NC-SA 4.0

Неизменность внутренней среды организма, или гомеостаз, поддерживается за счет постоянного притока в клетку веществ и энергии, уравновешенного их запасанием или выводом продуктов распада. Потоки вещества и энергии могут изменяться. В одних случаях они могут превышать потребности клетки, а в других – быть существенно меньшими. В соответствии с этим изменяется и соотношение скоростей катаболизма и анаболизма. В определенных случаях (например, при интенсивной работе или голодании) может происходить потребление собственных менее важных для выживания полимеров (например, липидов и мышечных белков) для построения жизненно важных полимеров, таких как нуклеиновые кислоты или молекулы, питающие мозг (глюкоза).

В многоклеточном организме у определенной группы клеток может возникнуть экстренная потребность в энергии. В таком случае осуществляется «перекачка» энергии и питательных веществ из одних клеток в другие. Подобный процесс наблюдается при выполнении тяжелой мышечной работы либо при подготовке организма к выполнению такой работы (например, при стрессе). При этом включаются нейрогуморальные механизмы, обеспечивающие снабжение мозга и мышц энергией, главным образом за счет ресурсов печени и жировой ткани. Так осуществляется адаптация к изменившимся условиям существования, в данном случае к дополнительным потребностям в энергии, возникшим в нервных и мышечных клетках. В настоящем обзоре рассматриваются молекулярные механизмы, обеспечивающие один из аспектов подобной адаптации, а именно контроль обмена глюкозы в печени.

Место печени в структуре метаболизма человека

Печень является ключевым органом обмена глюкозы, обеспечивающим поддержание ее постоянного уровня

© Russian Association of Endocrinologists, 2016
Received: 09.12.2015. Accepted: 28.06.2016.
Сахарный диабет. 2016;19(3):190-198 doi: 10.14341/DM2003436-40 Diabetes Mellitus. 2016;19(3):190-198

в плазме крови. Несмотря на то, что в периоды голодания для обеспечения энергетических потребностей организма могут мобилизоваться триацилглицериды из жировой ткани, именно бесперебойное поступление глюкозы критически необходимо для метаболизма таких тканей, как нервная ткань [1], эритроциты [2] и сосудистый эндотелий [3]. В связи с этим метаболизм клеток печени находится под строгим контролем гормональных сигнальных каскадов, которые совместно обеспечивают адаптацию процессов распада, синтеза и запасания глюкозы гепатоцитами для текущих потребностей организма.

При голодании, при уменьшении уровня глюкозы в крови происходит активация α-клеток островков Лангерганса в поджелудочной железе, продуцирующих глюкагон [4]. Его действие запускает в гепатоцитах процессы гликогенолиза, глюконеогенеза, а также способствует транскрипционной активации процесса высвобождения глюкозы, тем самым способствуя поддержанию постоянного уровня глюкозы в плазме крови [5]. После приема пищи уровень глюкозы в плазме крови повышается, это событие активирует сигнальный каскад глюкозного сенсора, присутствующего в β-клетках поджелудочной железы, что приводит к высвобождению ими инсулина [6]. Инсулин, связываясь со своими рецепторами в гепатоцитах, одновременно запускает два сопряженных процесса: во-первых, он стимулирует использование глюкозы для получения энергии, а также ее запасание в виде гликогена и триацилглицеридов; во-вторых, он подавляет продукцию и высвобождение глюкозы [7].

Глюконеогенез

В течение сравнительно коротких периодов голодания печень производит и высвобождает глюкозу в кровоток за счет расщепления запасов гликогена. Тем не менее, по мере исчерпания запасов гликогена печень начинает поддерживать уровень глюкозы в плазме крови при помощи глюконеогенеза. Данный процесс характерен для печени и критически необходим для нормального функционирования организма в периоды длительного голодания. Глюконеогенез представляет собой синтез глюкозы из предшественников неуглеводной природы, таких как пируват, лактат, глицерол или некоторые аминокислоты (рис. 1). Эти субстраты либо синтезируются в печени, либо доставляются в нее кровотоком из периферических тканей. В печени лактат превращается в пируват при участии фермента лактатдегидрогеназы.

Пируват, вступающий в процесс глюконеогенеза, под действием фермента пируваткарбоксилазы сначала превращается в оксалоацетат. Другими источниками оксалоацетата для участия в глюконеогенезе могут быть цикл Кребса и процессы распада некоторых глюкогенных аминокислот. После этого оксалоацетат превращается в фосфоенолпируват (ФЕП) при участии фермента фосфоенолпируват-карбоксикиназы – одного из ключевых ферментов глюконеогенеза. Нокаут гена этого фермента приводит к смерти лабораторных мышей на третий день после рождения [8]. При этом нокаут этого фермента только в печени не приводит к гибели животных во время эмбрионального развития, тем не менее, они не способны синтезировать глюкозу из лактата и аминокислот, что ведет к накоплению интермедиатов цикла Кребса в гепатоцитах и стеатозу печени [9]. В отличие от большинства метаболических ферментов, ФЕП-карбоксикиназа не подвержена аллостерической или посттрансляционной регуляции и регулируется за счет изменения уровня экспрессии. В пользу этого может свидетельствовать наличие большого количества регуляторных элементов (инсулинчувствительных, глюкокортикоидчувствительных, цАМФ-чувствительных и др. в промоторе гена этого фермента [10]. ФЕП после своего синтеза проходит через серию биохимических превращений, являющихся обращением реакций гликолиза, и превращается в фруктозо-2,6-бисфосфат, который, в свою очередь, дефосфорилируется фруктозо-2,6-бисфосфатазой с образованием фруктозо-6-фосфата. Фруктозо-6-фосфат изомеризуется в глюкозо-6-фосфат, который транспортируется в эндоплазматический ретикулум и подвергается дефосфорилированию глюкозо-6-фосфатазой. Данный фермент содержится только в печени, почках и тонком кишечнике и необходим для скоростьлимитирующей реакции как в глюконеогенезе, так и гликогенолизе. Заболевание, связанное с нарушением экспрессии этого фермента (называемое болезнью Гирке), характеризуется такими симптомами, как гипогликемия, гипертриглицеридемия, сопряженная со стеатозом печени, а также лактатный ацидоз [11]. Как и в случае с ФЕП-карбоксикиназой, регуляция активности глюкозо-6-фосфатазы осуществляется не посттрансляционно, а посредством изменения уровня ее экспрессии. Промотор гена этого фермента несет многочисленные участки связывания с гормончувствительными транскрипционными факторами и коактиваторами [12] (рис. 1)

Регуляция глюконеогенеза может осуществляться двумя путями: посттрансляционно и претрансляционно. Посттрансляционные механизмы подразумевают регуляцию через изменение уровня субстратов реакций, а также аллостерическую регуляцию ферментативной активности, эти процессы обеспечивают быструю (в течение десятков минут) адаптацию к изменяющимся условиям. В свою очередь, претрансляционная регуляция осуществляется за счет активации или репрессии генов ключевых ферментов глюконеогенеза под действием различных транскрипционных факторов и происходит в течение часов. Активность этих транскрипционных факторов находится под контролем гормональных сигналов, обеспечивающих точную подстройку метаболизма гепатоцитов под энергетические потребности организма, при смене периодов голодания и приема пищи.

Транскрипционные факторы, регулирующие экспрессию основных генов глюконеогенеза (глюкозо-6-фосфатазы и ФЕП-карбоксикиназы)

FOXO-1

Транскрипционные факторы FOXO относятся к семейству транскрипционных факторов Forkhead, вы-

деляемых в отдельный класс за счет своей способности узнавать специальные регуляторные элементы в промоторах генов, называемые элементами ответа на инсулин (insulin response element – IRE) [13]. В клетках млекопитающих обнаружено четыре белка, относящихся к этому семейству: FOXO1, FOXO3, FOXO4 и FOXO6. Эти транскрипционные факторы являются ключевыми регуляторами процессов обмена энергии, ответа на стрессовые воздействия и поддержания жизнеспособности клеток [14]. FOXO6 является специфическим транскрипционным фактором нейронов [15], остальные три белка FOXO представлены в широком спектре тканей [16]. Эти три белка наряду с большим количеством общих транскрипционных мишеней обладают специфическими транскрипционными мишенями, определяющими их уникальные функции. Так, FOXO1 играет ключевую роль в регуляции чувствительности к инсулину [17–19] (рис. 2).

Функции транскрипционного фактора FOXO1 *in vivo* были детально исследованы на различных генетических

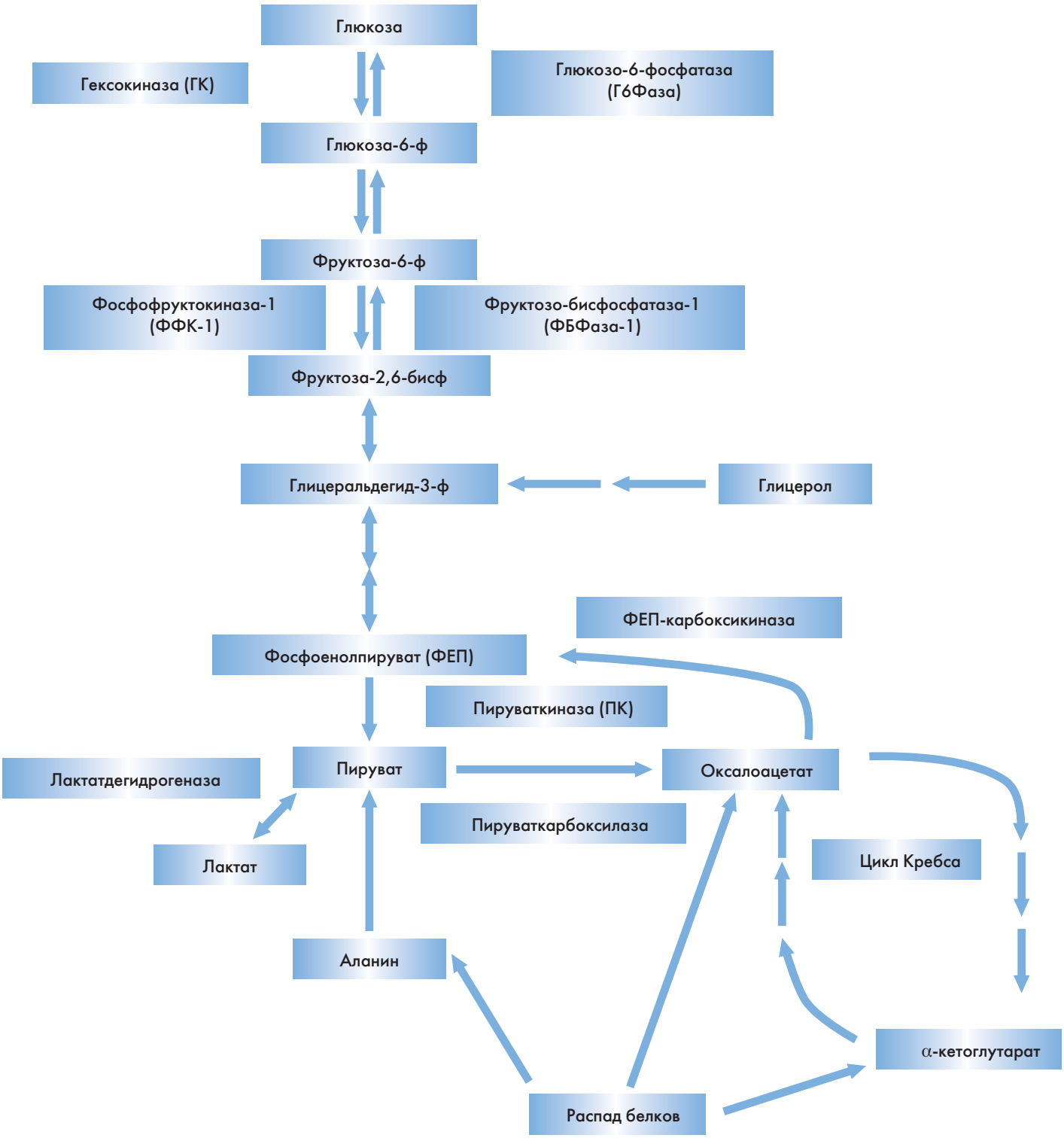

Рис. 1. Процессы обмена глюкозы в гепатоцитах (схема).

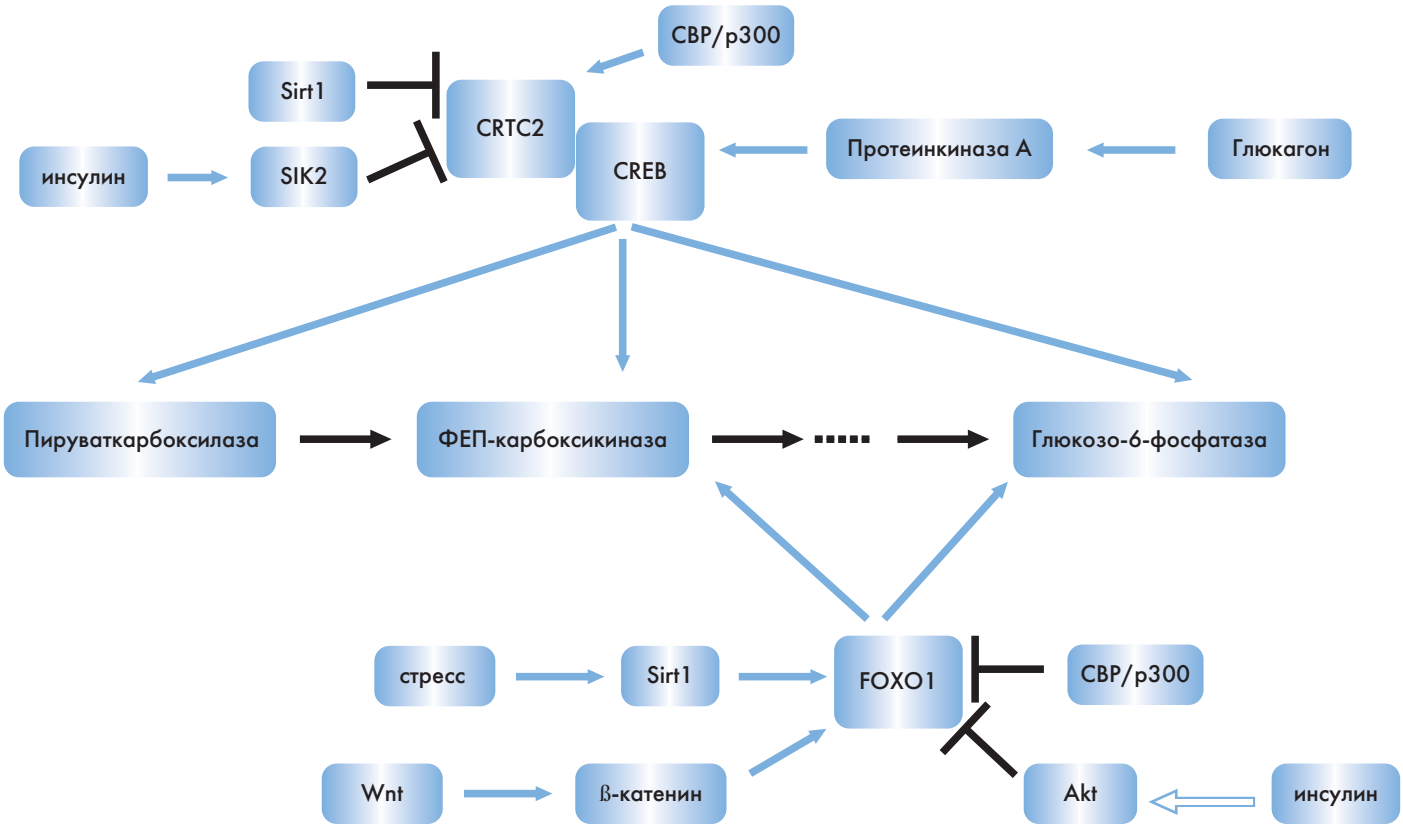

Рис. 2. Транскрипционная регуляции глюконеогенеза (схема).

моделях. В частности, было обнаружено, что мыши с нокаутом гена *FOXO1* погибают на стадии эмбрионального развития из-за нарушения ангиогенеза [20]. Данный фенотип может быть объяснен недавними исследованиями, установившими критическую роль процессов гликолиза и глюконеогенеза для дифференцировки и прорастания сосудистого эндотелия [21, 22]. При этом гетерозиготы по нокауту гена *FOXO1* оказались устойчивыми к развитию инсулиновой резистентности и диабета [23]. Это может объясняться усилением чувствительности печеночной ткани к инсулину, так как в данной модели также наблюдалось снижение уровня инсулина в плазме крови. При экспрессии конститутивно активной формы *FOXO1* происходит развитие гипергликемии, сопряженной с инсулиновой резистентностью печени и увеличением уровня экспрессии гена глюкозо-6-фосфатазы [18, 23]. Экспрессия конститутивно неактивной формы *FOXO1* или селективный нокаут данного гена в печени приводит к снижению уровня глюкозы в крови, а также уменьшению экспрессии генов глюкозо-6-фосфатазы и ФЕП-карбоксикиназы [19].

Эти данные указывают на механизм, лежащий в основе способности *FOXO1* регулировать глюконеогенез в клетках печени: он активирует экспрессию двух ключевых глюконеогенных ферментов – глюкозо-6-фосфатазы и ФЕП-карбоксикиназы и, как следствие, увеличивает продукцию глюкозы печенью [24]. При повышении концентрации глюкозы в крови после приема пищи происходит высвобождение инсулина β-клетками островков Лангерганса, что ведет к активации инсулинового сигнального каскада и индукции активности киназы Akt (протеинкиназы Б) [4]. Последняя фосфорилирует *FOXO1* по остаткам серина и треонина (Thr24, Ser 253, Ser316), фосфорилирование приводит к связыванию этого фактора с адапторным белком 14-3-3, его экспорту из ядра и инактивации [25].

Антагонизм действия инсулинового сигнального каскада и фактора FOXO1 и его важность для поддержания баланса синтеза/запасания глюкозы были продемонстрированы в ряде работ с двойным нокаутом элементов инсулинового сигнального каскада и фактора FOXO1. Так, селективный нокаут в печени инсулинового рецептора [17] или киназ Akt 1 и Akt 2 [26] приводил к развитию гипергликемии и нарушению регуляции глюконеогенеза. Множественный нокаут в печени у этих животных по гену инсулинового рецептора или Akt 1 и Akt 2, а также по гену *FOXO1* приводил к проявлению нормального фенотипа (животные были способны поддерживать нормальный уровень глюкозы в крови). Это демонстрирует, что *FOXO1* является глюконеогенным фактором, и поддержание нормального уровня глюкозы при его отсутствии не требует активации инсулинового сигнального каскада. В свою очередь, инсулинзависимая индукция Akt в норме осуществляет инактивацию этого транскрипционного фактора с целью снизить продукцию глюкозы после приема пищи.

Регуляция активности FOXO1 может осуществляться не только посредством инсулин/Akt сигнального каскада. Процессы ацетилирования и деацетилирования транскрипционного фактора играют важную роль в мо-

дуляции его функций. Одним из ферментов, субстратом которого является FOXO1, является NAD^+-зависимая деацетилаза Sirt1. Установлено, что в условиях стресса деацетилирование FOXO1 приводит к локализации его в ядре и активации его транскрипционной функции [27, 28]. В противоположность этому, ацетилирование FOXO1 под действием ацетилтрансфераз CBP/p300 приводит к ингибированию его транскрипционной активности [29].

Наряду с этим ядерную локализацию и транскрипционную активность фактора FOXO1 может обеспечивать его взаимодействие с бета-катенином. Этот белок является эффектором канонического сигнального каскада Wnt, который до недавнего времени рассматривался только в контексте регуляции морфогенеза и развития рака [30]. Однако работы последних лет демонстрируют, что он может участвовать также в регуляции энергетического метаболизма клеток и инсулиновой чувствительности [31]. Связывание FOXO1 с бета-катенином приводит к стабилизации его ядерной локализации и усилению экспрессии генов глюкозо-6-фосфатазы и ФЕП-карбоксикиназы – транскрипционных целей фактора FOXO1 [32].

CREB

Белок, связывающий цАМФ-чувствительный элемент, CREB (cAMP response element binding protein), является транскрипционным фактором, имеющим структуру спираль-петля-спираль и содержащим ДНК-связывающий мотив типа «лейциновая молния». Этот транскрипционный фактор активен в широком спектре тканей в периоды голодания [33]. Участками связывания CREB являются последовательности CRE (cAMP response element), присутствующие в промоторах генов ключевых ферментов глюконеогенеза: глюкозо-6-фосфатазы, пируваткарбоксилазы и ФЕП-карбоксикиназы [34, 35].

Участие фактора CREB в регуляции глюконеогенеза было продемонстрировано с использованием трансгенных мышей, экспрессирующих в печени alb-ACREB – селективный ингибитор CREB. Эти животные характеризовались сниженным уровнем глюкозы в крови и подавленной экспрессией генов глюконеогенеза [36]. Кроме того, подавление экспрессии CREB при помощи малых интерферирующих РНК также приводило к снижению уровня глюкозы в моделях *in vivo*, доказывая важную роль этого фактора в физиологическом контроле процесса глюконеогенеза [37].

В норме уменьшение уровня глюкозы в крови при голодании приводит к высвобождению глюкагона α-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы [6]. Глюкагон, связываясь со своим рецептором, вызывает активацию аденилатциклазы, что приводит к накоплению в цитоплазме цАМФ. Повышение внутриклеточного уровня цАМФ приводит к активации протеинкиназы А, которая транслоцируется в ядро и фосфорилирует CREB по остатку Ser133, переводя его в активную форму, способную связывать последовательности CRE [33].

Кроме этого механизма, регуляция активности CREB осуществляется через его коактиватор CRTC2 (CREB-regulated transcription coactivator 2), необходимый для реализации функций этого транскрипционного фактора [38]. В периоды голодания CRTC2 находится в ядре, где он связывается с фосфо-CREB и обеспечивает транскрипцию генов глюконеогенеза. Однако после приема пищи, в ответ на повышение уровня инсулина в крови, происходит фосфорилирование CRTC2 серин/треониновой протеинкиназой SIK2 по остаткам Ser70 и Ser171, что приводит к связыванию коактиватора с адапторным белком 14-3-3 и его экспорту из ядра. В результате этого CREB теряет свою транскрипционную активность, и происходит репрессия генов ферментов глюконеогенеза. Снижение экспрессии этих генов продолжается в течение двух-трех часов после приема пищи, что обеспечивает снижение продукции глюкозы организмом при наличии экзогенных источников энергии [39]. Также активность коактиватора CRTC2 регулируется за счет ацетилирования и деацетилирования. Высокие концентрации цАМФ приводят к ацетилированию этого белка за счет ацетилтрансферазы p300, что делает его устойчивым к деградации. При этом снижение уровня цАМФ, наоборот, приводит к деацетилированию SRTC2 под действием ацетил-трансферазы Sirt1 и его последующей деградации [40]. Наконец, активность комплекса фосфо-CREB/CRTC2 может меняться при гипергликемии за счет О-гликозилирования. Длительное воздействие высокого уровня глюкозы приводит к гликозилированию остатков Ser70 и Ser171 в SRTC2, что приводит к невозможности их фосфорилирования киназой SIK2. Это приводит к сохранению транскрипционной активности комплекса и, как следствие, экспрессии генов глюконеогенеза даже после приема пищи и является одним из факторов развития диабета второго типа [41].

Гликолиз и использование глюкозы

Гепатоциты обладают большой биохимической гибкостью и способны использовать в качестве источников энергии и метаболитов глюкозу, жирные кислоты и аминокислоты. Выбор конкретного «топлива» регулируется как доступностью субстратов, так и гормональными сигналами. После приема пищи основным метаболическим процессом становится гликолиз, так как, помимо энергии, он поставляет соединения для синтеза триглицеридов, аминокислот и других важных клеточных метаболитов. Скорость гликолиза регулируется активностью нескольких ключевых ферментов (рис. 1, 3) – это гексокиназа, фосфофруктокиназа-1 (ФФК-1) и пируваткиназа. При голодании их уровень в цитоплазме и активность снижаются, в то время как при приеме пищи, наоборот, происходит возрастание их экспрессии и ферментативной активности [42].

Гексокиназа является ферментом гликолиза, катализирующим первую его стадию – реакцию АТФ-зависимого фосфорилирования глюкозы с превращением ее в глюкозо-6-фосфат. Эта реакция критически необ-

ходима для удержания глюкозы в клетках, и во многом именно она обеспечивает вступление глюкозы во все внутриклеточные метаболические процессы. В связи с этим гексокиназа в печени является мишенью для многочисленных регуляторных механизмов. Во-первых, поступление глюкозы в гепатоциты определяется изоформным составом гексокиназы в клетках. В печени присутствуют две изоформы этого фермента – это гексокиназа-I (присутствующая также и в других тканях) и гексокиназа-IV (присутствующая преимущественно в печени). Гексокиназа-IV, или глюкокиназа, обладая меньшим сродством к глюкозе, чем аналогичные ферменты в других тканях, достигает максимальной ферментативной активности только при высоких концентрациях глюкозы, характерных для состояния после приема пищи. Другим важным регуляторным механизмом для печеночной глюкокиназы является наличие особого регуляторного белка GRP, который связывает глюкокиназу и направляет ее в ядро, что приводит к ее инактивации. После приема пищи под действием глюкозы происходит разрушение комплекса GRP-глюкокиназа и высвобождение активного фермента в цитоплазму [43]. Как и у большинства ключевых ферментов энергетического метаболизма клеток, активность глюкокиназы регулируется также на уровне экспрессии, которая заметно снижается в периоды голодания и увеличивается после приема пищи [42].

В отличие от большинства других ферментов, регулирующих потоки энергии в клетке, фосфофруктокиназа-1 (ФФК-1) не подвержена транскрипционной регуляции. При этом существует крайне эффективный механизм ее регуляции посредством аллостерических факторов. Он сопряжен с активностью фермента фосфофруктокиназы-2, способного как синтезировать фруктозо-2,6-бисфосфат (аллостерический активатор ФФК-1), стимулируя гликолиз, так и разрушать его, стимулируя глюконеогенез. Активность данного фермента находится под строгим гормональным контролем, обеспечивающим координацию между потребностями организма и метаболизмом гепатоцитов [22].

Пируваткиназа – фермент, катализирующий последнюю необратимую стадию гликолиза – превращение фосфоенолпирувата в пируват, также управляется гормональными сигналами. С одной стороны, печеночная изоформа пируваткиназы может регулироваться на уровне посттрансляционных модификаций. Так, действие глюкагона приводит к фосфорилированию пируваткиназы при помощи протеинкиназы А и снижению ее ферментативной активности, в то время как под воздействием инсулина и ксилулозо-5-фосфата происходит активация протеинфосфатазы 2А (PP2A), что ведет к дефосфорилированию пируваткиназы и восстановлению ее активности [44]. Кроме того, регуляция активности пируваткиназы осуществляется на транскрипционном уровне, о чем свидетельствует наличие различных участков связывания транскрипционных факторов в промоторе гена данного фермента [45].

Транскрипционные механизмы регуляции гликолиза

ChREBP

Давно известно, что глюкоза является не только источником энергии для клеточных функций, но и важным анаболическим субстратом, необходимым для синтеза большого количества макромолекул. В то же время было обнаружено, что для печени и жировой ткани глюкоза является сигнальной молекулой, запуская в этих тканях экспрессию генов, кодирующих ферменты, связанные

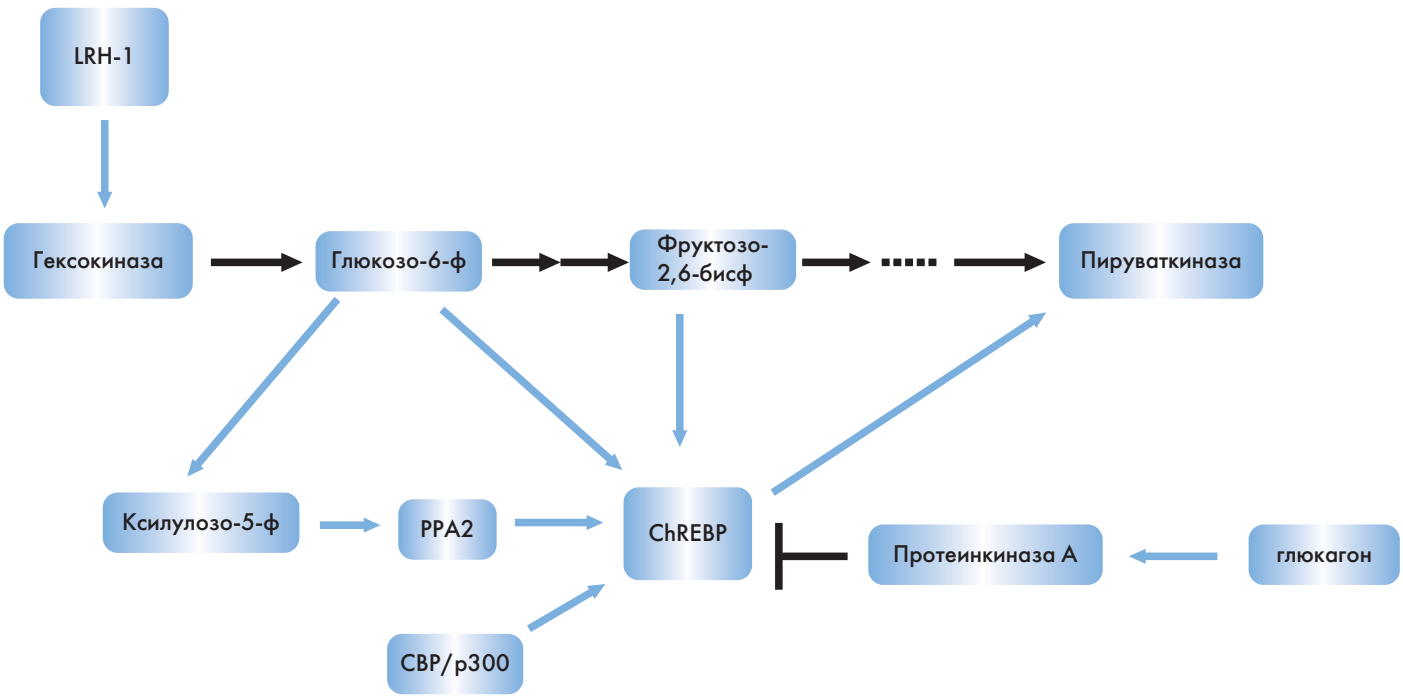

Рис. 3. Транскрипционная регуляция гликолиза (схема).

с гликолизом и обменом липидов, такие как пируваткиназа, ацетил-KoA карбоксилаза и др. [46]. Все эти гены, регулируемые глюкозой, обладают консервативной последовательностью в промоторе, называемом ChoRE (carbohydrate response element), обеспечивающей чувствительность к глюкозе [47]. Однако механизм этой чувствительности оставался неясным до тех пор, пока не был открыт транскрипционный фактор ChREBP (carbohydrate response element binding protein) [48]. Он преимущественно экспрессируется в печени, а также в жировой ткани [49], при этом его экспрессия возрастает в ответ на высокое содержание углеводов в диете [50]. При подавлении уровня ChREBP при помощи siРНК происходит нарушение глюкозозависимой индукции генов гликолиза и липогенеза [51]. Окончательное доказательство вовлеченности фактора ChREBP в обеспечение гомеостаза глюкозы было получено с использованием модели трансгенных мышей, лишенных гена *ChREBP*. Эти животные обладали увеличенной, перегруженной гликогеном печенью при сокращенном объеме жировой ткани и пониженном уровне жирных кислот в плазме крови. Кроме того, при нокауте гена *ChREBP* у животных происходит нарушение чувствительности к инсулину, сопровождающееся гипергликемией, накоплением промежуточных метаболитов гликолиза и нарушением продукции пирувата и липидов [49].

Активность ChREBP регулируется за счет многочисленных посттрансляционных модификаций [52]. При голодании, когда концентрация глюкозы в плазме понижена, а уровень жирных кислот повышен, происходит фосфорилирование остатка Ser196 в ChREBP под действием протеинкиназы А. Это приводит к связыванию транскрипционного фактора с адаптерным белком 14-3-3, его удалению из ядра и инактивации [53]. Повышение уровня внутриклеточной глюкозы приводит к увеличению концентрации ее производных, в частности ксилулозо-5-фосфата, образующегося в пентозофосфатном пути. Ксилулозо-5-фосфат активирует протеинфосфатазу PP2A, которая дефосфорилирует ChREBP, позволяя ему попасть в ядро [54] и связаться со своим партнером Mlx (Max-likeproteinX), что ведет к индукции транскрипции целевых генов. Взаимодействие этих двух белков является необходимым для распознавания последовательностей ChoRE в промоторе [55]. Также имеются данные о том, что аллостерическими регуляторами ChREBP могут быть глюкозо-6-фосфат [56] и фруктозо-2,6-бисфосфат [57]. В частности, было продемонстрировано, что снижение концентрации этих метаболитов в цитоплазме приводило к ингибированию глюкозозависимого связывания ChREBP с ДНК, однако точный механизм их действия еще предстоит изучить.

Кроме этого, существуют и другие механизмы регуляции активности данного транскрипционного фактора. Как и факторы FOXO1 и CRTC2, фактор ChREBP может подвергаться ацетилированию под действием ацетил-трансферазы p300 [58] и O-гликозилированию под действием O-гликозил-N-ацетилтрансферазы [59]. Однако, в отличие от других транскрипционных факторов, такие модификации никак не влияют на транслокацию ChREBP в ядро, вместо этого они повышают его транскрипционную активность путем усиления его взаимодействия с ДНК. Нарушение этих модификаций за счет использования мутантных форм ChREBP сильно ослабляет способность глюкозы индуцировать экспрессию генов. В то же время при гипергликемии, например, в моделях диабета, как ацетилирование, так и гликозилирование ChREBP сильно возрастают, что приводит к усилению его активности и, как следствие, ускорению накопления липидов в печени. Более того, было продемонстрировано, что ингибирование таких модификаций способно предотвратить развитие стеатоза печени [58, 59].

Таким образом, гексокиназа и фактор ChREBP формируют ключевой каскад, отвечающий за рецепцию глюкозы гепатоцитами. Гексокиназа регулирует вход глюкозы в клетки, тем самым регулируя также экспрессию глюкозочувствительных генов. Однако недавно у этого каскада обнаружился еще один участник. Фактор LRH-1 (liver receptor homolog-1), который относится к семейству ядерных рецепторов и интенсивно экспрессируется в печени, оказался способен регулировать поступление глюкозы в клетки за счет непосредственной транскрипционной регуляции уровня гексокиназы, что было продемонстрировано в экспериментах с экспрессией LRH-1 в клеточных линиях [60]. Кроме того, дефицит этого фактора в гепатоцитах нарушает физиологический ответ на глюкозу, состоящий в активации транскрипционной активности фактора ChREBP [60].

Заключение

Описываемые в представленном обзоре транскрипционные факторы являются ключевыми регуляторами обмена глюкозы в гепатоцитах, что делает их перспективными лекарственными мишенями при лечении сахарного диабета. Уже есть данные о положительном эффекте снижения экспрессии фактора CREB в печени в экспериментальных моделях диабета 2 типа, заключающемся в снижении уровня глюкозы в плазме крови и повышении чувствительности к инсулину [37]. Недавно было продемонстрировано, что FOXO1 в печени регулирует инсулиновую чувствительность не только гепатоцитов, но и периферических тканей. Предположительно, селективный нокаут гена *FOXO1* в печени может влиять на чувствительность к инсулину в периферических тканях за счет изменения продукции специфических печеночных факторов, обеспечивающих регуляцию действия инсулина на организм [17–19]. При этом изменение активности этих транскрипционных факторов в экспериментальных моделях успешно регулируется не только за счет нокаута целевых транскрипционных факторов, но и за счет механизмов их посттрансляционных модификаций [28, 42, 53]. Эти находки открывают широкий диапазон потенциальных терапевтических мишеней для лечения диабета и других заболеваний, связанных с нарушением обмена глюкозы.

Дополнительная информация

Информация о финансировании

Работа была выполнена на средства гранта Российского научного фонда № 14-35-00026 «Сахарный диабет 2 типа и метаболический синдром: выяснение молекулярных механизмов, ключевых сигнальных путей и транскрипционных факторов с целью определения биомишеней для новых лекарственных средств».

Информация о конфликте интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Список литературы | References

1. Ivanov AI, Malkov AE, Waseem T, et al. Glycolysis and oxidative phosphorylation in neurons and astrocytes during network activity in hippocampal slices. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2014;34(3):397-407. doi: 10.1038/jcbfm.2013.222
2. Climent F, Roset F, Repiso A, de la Ossa P. Red Cell Glycolytic Enzyme Disorders Caused by Mutations: An Update. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*. 2009;9(2):95-106. doi: 10.2174/187152909788488636.
3. Goveia J, Stapor P, Carmeliet P. Principles of targeting endothelial cell metabolism to treat angiogenesis and endothelial cell dysfunction in disease. *EMBO Mol Med*. 2014;6(9):1105-1120. doi: 10.15252/emmm.201404156
4. Gromada J, Franklin I, Wollheim CB. Alpha-cells of the endocrine pancreas: 35 years of research but the enigma remains. *Endocr Rev*. 2007;28(1):84-116. doi: 10.1210/er.2006-0007
5. Jiang G, Zhang BB. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;284(4):E671-678. doi: 10.1152/ajpendo.00492.2002
6. Rutter GA, Pullen TJ, Hodson DJ, et al. Pancreatic beta-cell identity, glucose sensing and the control of insulin secretion. *Biochem J*. 2015;466(2):203-218. doi: 10.1042/BJ20141384
7. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414(6865):799-806. doi: 10.1038/414799a
8. She P, Shiota M, Shelton KD, et al. Phosphoenolpyruvate Carboxykinase Is Necessary for the Integration of Hepatic Energy Metabolism. *Mol Cell Biol*. 2000;20(17):6508-6517. doi: 10.1128/mcb.20.17.6508-6517.2000
9. Burgess SC, Hausler N, Merritt M, et al. Impaired tricarboxylic acid cycle activity in mouse livers lacking cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase. *J Biol Chem*. 2004;279(47):48941-48949. doi: 10.1074/jbc.M407120200
10. Yang J, Reshef L, Cassuto H, et al. Aspects of the control of phosphoenolpyruvate carboxykinase gene transcription. *J Biol Chem*. 2009;284(40):27031-27035. doi: 10.1074/jbc.R109.040535
11. Marcolongo P, Fulceri R, Gamberucci A, et al. Multiple roles of glucose-6-phosphatases in pathophysiology: state of the art and future trends. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1830(3):2608-2618. doi: 10.1016/j.bbagen.2012.12.013
12. Hutton JC, O'Brien RM. Glucose-6-phosphatase catalytic subunit gene family. *J Biol Chem*. 2009;284(43):29241-29245. doi: 10.1074/jbc.R109.025544
13. Durham SK. FKHR Binds the Insulin Response Element in the Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-1 Promoter. *Endocrinology*. 1999;140(7):3140-3146. doi: 10.1210/en.140.7.3140
14. Calnan DR, Brunet A. The FoxO code. *Oncogene*. 2008;27(16):2276-2288. doi: 10.1038/onc.2008.21
15. Jacobs FMJ, van der Heide LP, Wijchers PJEC, et al. FoxO6, a Novel Member of the FoxO Class of Transcription Factors with Distinct Shuttling Dynamics. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(38):35959-35967. doi: 10.1074/jbc.M302804200
16. Barthel A, Schmoll D, Unterman TG. FoxO proteins in insulin action and metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2005;16(4):183-189. doi: 10.1016/j.tem.2005.03.010
17. Sullivan IO, Zhang W, Wasserman DH, et al. FoxO1 integrates direct and indirect effects of insulin on hepatic glucose production and glucose utilization. *Nat Commun*. 2015;6:7079. doi: 10.1038/ncomms8079
18. Matsumoto M, Han S, Kitamura T, Accili D. Dual role of transcription factor FoxO1 in controlling hepatic insulin sensitivity and lipid metabolism. *J Clin Invest*. 2006;116(9):2464-2472. doi: 10.1172/JCI27047
19. Matsumoto M, Pocai A, Rossetti L, et al. Impaired regulation of hepatic glucose production in mice lacking the forkhead transcription factor Foxo1 in liver. *Cell Metab*. 2007;6(3):208-216. doi: 10.1016/j.cmet.2007.08.006
20. Hosaka T, Biggs WH, 3rd, Tieu D, et al. Disruption of forkhead transcription factor (FOXO) family members in mice reveals their functional diversification. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(9):2975-2980. doi: 10.1073/pnas.0400093101
21. De Bock K, Georgiadou M, Schoors S, et al. Role of PFKFB3-driven glycolysis in vessel sprouting. *Cell*. 2013;154(3):651-663. doi: 10.1016/j.cell.2013.06.037
22. Rivera LB, Bergers G. Angiogenesis. Targeting vascular sprouts. *Science*. 2014;344(6191):1449-1450. doi: 10.1126/science.1257071
23. Nakae J, Biggs WH, 3rd, Kitamura T, et al. Regulation of insulin action and pancreatic beta-cell function by mutated alleles of the gene encoding forkhead transcription factor Foxo1. *Nat Genet*. 2002;32(2):245-253. doi: 10.1038/ng890
24. Zhang W, Patil S, Chauhan B, et al. FoxO1 regulates multiple metabolic pathways in the liver: effects on gluconeogenic, glycolytic, and lipogenic gene expression. *J Biol Chem*. 2006;281(15):10105-10117. doi: 10.1074/jbc.M600272200
25. Zhao X, Gan L, Pan H, et al. Multiple elements regulate nuclear/cytoplasmic shuttling of FOXO1: characterization of phosphorylation- and 14-3-3-dependent and -independent mechanisms. *Biochem J*. 2004;378(Pt 3):839-849. doi: 10.1042/BJ20031450
26. Lu M, Wan M, Leavens KF, et al. Insulin regulates liver metabolism in vivo in the absence of hepatic Akt and Foxo1. *Nat Med*. 2012;18(3):388-395. doi: 10.1038/nm.2686
27. Daitoku H, Hatta M, Matsuzaki H, et al. Silent information regulator 2 potentiates Foxo1-mediated transcription through its deacetylase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(27):10042-10047. doi: 10.1073/pnas.0400593101
28. Hori YS, Kuno A, Hosoda R, Horio Y. Regulation of FOXOs and p53 by SIRT1 modulators under oxidative stress. *PLoS One*. 2013;8(9):e73875. doi: 10.1371/journal.pone.0073875
29. Huang H, Tindall DJ. Dynamic FoxO transcription factors. *J Cell Sci*. 2007;120(Pt 15):2479-2487. doi: 10.1242/jcs.001222
30. Petersen CP, Reddien PW. Wnt signaling and the polarity of the primary body axis. *Cell*. 2009;139(6):1056-1068. doi: 10.1016/j.cell.2009.11.035
31. Abiola M, Favier M, Christodoulou-Vafeiadou E, et al. Activation of Wnt/beta-catenin signaling increases insulin sensitivity through a reciprocal regulation of Wnt10b and SREBP-1c in skeletal muscle cells. *PLoS One*. 2009;4(12):e8509. doi: 10.1371/journal.pone.0008509
32. Liu H, Fergusson MM, Wu JJ, et al. Wnt signaling regulates hepatic metabolism. *Sci Signal*. 2011;4(158):ra6. doi: 10.1126/scisignal.2001249
33. Mayr B, Montminy M. Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2001;2(8):599-609. doi: 10.1038/35085068
34. Schmoll D, Wasner C, Hinds CJ, et al. Identification of a cAMP response element within the glucose- 6-phosphatase hydrolytic subunit gene promoter which is involved in the transcriptional regulation by cAMP and glucocorticoids in H4IIE hepatoma cells. *Biochem J*. 1999;338(2):457-463. doi: 10.1042/bj3380457
35. Hanson RW, Reshef L. Regulation of Phosphoenolpyruvate Carboxykinase (Gtp) Gene Expression. *Annu Rev Biochem*. 1997;66(1):581-611. doi: 10.1146/annurev.biochem.66.1.581
36. Herzig S, Long F, Jhala US, et al. *Nature*. 2001;413(6852):179-183. doi: 10.1038/35093131
37. Erion DM, Ignatova ID, Yonemitsu S, et al. Prevention of hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by knockdown of cAMP response element-binding protein. *Cell Metab*. 2009;10(6):499-506. doi: 10.1016/j.cmet.2009.10.007
38. Koo SH, Flechner L, Qi L, et al. The CREB coactivator TORC2 is a key regulator of fasting glucose metabolism. *Nature*. 2005;437(7062):1109-1111. doi: 10.1038/nature03967
39. Dentin R, Liu Y, Koo SH, et al. Insulin modulates gluconeogenesis by inhibition of the coactivator TORC2. *Nature*. 2007;449(7160):366-369. doi: 10.1038/nature06128
40. Liu Y, Dentin R, Chen D, et al. A fasting inducible switch modulates gluconeogenesis via activator/coactivator exchange. *Nature*. 2008;456(7219):269-273. doi: 10.1038/nature07349
41. Dentin R, Hedrick S, Xie J, et al. Hepatic glucose sensing via the CREB coactivator CRTC2. *Science*. 2008;319(5868):1402-1405. doi: 10.1126/science.1151363
42. Kim HS, Xiao C, Wang RH, et al. Hepatic-specific disruption of SIRT6 in mice results in fatty liver formation due to enhanced glycolysis

and triglyceride synthesis. *Cell Metab.* 2010;12(3):224-236. doi: 10.1016/j.cmet.2010.06.009
43. Agius L. Glucokinase and molecular aspects of liver glycogen metabolism. *Biochem J.* 2008;414(1):1-18. doi: 10.1042/BJ20080595
44. Denton RM, Brownsey RW, Yeaman SJ. The Role of Phosphorylation in the Regulation of Fatty Acid Synthesis by Insulin and other Hormones [and Discussion]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences.* 1983;302(1108):33-45. doi: 10.1098/rstb.1983.0036
45. Xu J, Christian B, Jump DB. Regulation of rat hepatic L-pyruvate kinase promoter composition and activity by glucose, n-3 polyunsaturated fatty acids, and peroxisome proliferator-activated receptor-alpha agonist. *J Biol Chem.* 2006;281(27):18351-18362. doi: 10.1074/jbc.M601277200
46. Girard J, Ferre P, Foufelle F. Mechanisms by which carbohydrates regulate expression of genes for glycolytic and lipogenic enzymes. *Annu Rev Nutr.* 1997;17:325-352. doi: 10.1146/annurev.nutr.17.1.325
47. Thompson KS, Towle HC. Localization of the carbohydrate response element of the rat L-type pyruvate kinase gene. *Journal of Biological Chemistry.* 1991;266(14):8679-8682.
48. Yamashita H, Takenoshita M, Sakurai M, et al. A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver. *Proc. Natl. Acad Sci. U.S.A.* 2001;98(16):9116-9121. doi: 10.1073/pnas.161284298
49. Iizuka K, Bruick RK, Liang G, et al. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(19):7281-7286. doi: 10.1073/pnas.0401516101
50. Dentin R, Benhamed F, Pegorier JP, et al. Polyunsaturated fatty acids suppress glycolytic and lipogenic genes through the inhibition of ChREBP nuclear protein translocation. *J Clin Invest.* 2005;115(10):2843-2854. doi: 10.1172/JCI25256
51. Dentin R, Pegorier JP, Benhamed F, et al. Hepatic glucokinase is required for the synergistic action of ChREBP and SREBP-1c on glycolytic and lipogenic gene expression. *J Biol Chem.* 2004;279(19):20314-20326. doi: 10.1074/jbc.M312475200
52. Havula E, Hietakangas V. Glucose sensing by ChREBP/MondoA-Mlx transcription factors. *Semin Cell Dev Biol.* 2012;23(6):640-647. doi: 10.1016/j.semcdb.2012.02.007
53. Sakiyama H, Wynn RM, Lee WR, et al. Regulation of nuclear import/export of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP): interaction of an alpha-helix of ChREBP with the 14-3-3 proteins and regulation by phosphorylation. *J Biol Chem.* 2008;283(36):24899-24908. doi: 10.1074/jbc.M804308200
54. Kabashima T, Kawaguchi T, Wadzinski BE, Uyeda K. Xylulose 5-phosphate mediates glucose-induced lipogenesis by xylulose 5-phosphate-activated protein phosphatase in rat liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100(9):5107-5112. doi: 10.1073/pnas.0730817100
55. Ma L, Sham YY, Walters KJ, Towle HC. A critical role for the loop region of the basic helix-loop-helix/leucine zipper protein Mlx in DNA binding and glucose-regulated transcription. *Nucleic Acids Res.* 2007;35(1):35-44. doi: 10.1093/nar/gkl987
56. Li MV, Chen W, Harmancey RN, et al. Glucose-6-phosphate mediates activation of the carbohydrate responsive binding protein (ChREBP). *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;395(3):395-400. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.04.028
57. Arden C, Tudhope SJ, Petrie JL, et al. Fructose 2,6-bisphosphate is essential for glucose-regulated gene transcription of glucose-6-phosphatase and other ChREBP target genes in hepatocytes. *Biochem J.* 2012;443(1):111-123. doi: 10.1042/BJ20111280
58. Bricambert J, Miranda J, Benhamed F, et al. Salt-inducible kinase 2 links transcriptional coactivator p300 phosphorylation to the prevention of ChREBP-dependent hepatic steatosis in mice. *J Clin Invest.* 2010;120(12):4316-4331. doi: 10.1172/JCI41624
59. Guinez C, Filhoulaud G, Rayah-Benhamed F, et al. O-GlcNAcylation increases ChREBP protein content and transcriptional activity in the liver. *Diabetes.* 2011;60(5):1399-1413. doi: 10.2337/db10-0452
60. Oosterveer MH, Mataki C, Yamamoto H, et al. LRH-1-dependent glucose sensing determines intermediary metabolism in liver. *J Clin Invest.* 2012;122(8):2817-2826. doi: 10.1172/JCI62368

Информация об авторах [Authors Info]

Кулебякин Константин Юрьевич [**Konstantin Y. Kulebyakin**]; адрес: Россия, 119192, Москва, Ломоносовский просп., д. 31, к. 5 [address: 31-5 Lomonosovsky avenue, 119192 Moscow, Russia]; eLibrary SPIN: 7573-8527; ORCID: 0000-0001-6954-5787; E-mail: konstantin-kuleb@mail.ru

Акопян Жанна Алексеевна, к.м.н., доцент [Janna A. Akopyan, MD, PhD, assistant professor]; eLibrary SPIN: 4450-0324; ORCID: 0000-0002-0989-7825. Кочегура Татьяна Николаевна, к.м.н. [Tatyana N. Kochegura, MD, PhD]; eLibrary SPIN: 7122-3731; ORCID 0000-0002-4869-4051. Пеньков Дмитрий Николаевич, к.ф-м.н. [Dmitriy N. Penkov, PhD]; eLibrary SPIN: 4788-6869; ORCID: 0000-0002-3741-1060.

Цитировать:

Кулебякин К.Ю., Акопян Ж.А., Кочегура Т.Н., Пеньков Д.Н. Механизмы транскрипционного контроля обмена глюкозы в печени // Сахарный диабет. — 2016. — Т. 19. — №3. — С. 190-198. doi: 10.14341/DM2003436-40

To cite this article:

Kulebyakin KY, Akopyan JA, Kochegura TN, Penkov DN. Mechanisms of transcriptional control of glucose metabolism in hepatocytes. *Diabetes mellitus.* 2016;19(3):190-198. doi: 10.14341/DM2003436-40