НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
КАРДИОЛОГИИ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.И.ЧАЗОВА МЗ РФ

На правах рукописи

МИЧУРИНА СВЕТЛАНА СЕРГЕЕВНА

РЕГУЛЯЦИЯ ПОГЛОЩЕНИЯ И УТИЛИЗАЦИИ ГЛЮКОЗЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНТЕРЛЕЙКИНА-4 В АДИПОЦИТАХ

1.5.4. – Биохимия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

кандидат биологических наук

Стафеев Юрий Сергеевич

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 4
ВВЕДЕНИЕ 8
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 14
1.1. Иммунометаболизм жировой ткани 14
1.2. Регуляция метаболизма глюкозы в адипоцитах 16
1.3. Регуляция метаболизма липидов в адипоцитах 21
1.4. Роль хронического воспаления ЖТ в развитии метаболических нарушений при ожирении 29
1.5. Механизмы индукции воспаления и ИР в ЖТ при ожирении 32
1.6. Роль провоспалительных цитокинов в регуляции энергетического метаболизма 38
1.7. Клиническое использование противовоспалительной терапии СД2Т 41
1.8. Роль противовоспалительного цитокина интерлейкина-4 в регуляции энергетического метаболизма 43
Заключение 46
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 49
2.1. Культивирование клеток 3T3-L1 50
2.2. Адипоцитарная дифференцировка клеток 3T3-L1 50
2.3. Оценка накопления липидов и морфологии липидных капель 51
2.4. Оценка активности термогенеза в адипоцитах 51
2.5. Измерение поглощения глюкозы адипоцитами 3T3-L1 51
2.6. Анализ метаболизма ^{14}C-меченой глюкозы в адипоцитах 52
2.7. Омыление и экстракция липидов 52
2.8. Тонкослойная хроматография 53
2.9. Оценка активности гликолиза и митохондриального дыхания 54
2.10. Анализ экспрессии белков и активности сигнальных каскадов методом иммуноблоттинга 54
2.11. Получение лентивирусных векторов 55
2.12. Лентивирусная трансдукция адипоцитов 3T3-L1 57

2.13. Оценка транслокации транспортера глюкозы GLUT4 методом иммуноцитохимии 58
2.14. Статистический анализ 58
3. РЕЗУЛЬТАТЫ 60
3.1. Влияние ИЛ-4 на поглощение и окисление глюкозы в адипоцитах 60
3.2. Оценка роли транскрипционного фактора STAT6 в регуляции поглощения глюкозы под действием ИЛ-4 65
3.3 Оценка регуляции инсулин-зависимых процессов под действием ИЛ-4 67
3.4. Оценка влияния ИЛ-4 на накопление липидов в адипоцитах 71
3.5. Определение регуляции липогенеза и липолиза под действием ИЛ-4 методом радиоизотопного анализа 73
3.6. Анализ роли липолитических ферментов в фрагментации ЛК под действием ИЛ-4 78
3.7. Регуляция термогенеза в адипоцитах под действием ИЛ-4 84
3.8. Исследование роли ATGL в активации окисления глюкозы под действием ИЛ-4 86
4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ 90
4.1. Активация окисления глюкозы 90
4.2. Сигнальные механизмы регуляции поглощения глюкозы под действием ИЛ-4 93
4.3. Влияние ИЛ-4 на метаболизм липидов 96
4.4. Активация термогенеза под действием ИЛ-4 100
4.5. Взаимосвязь метаболических путей, активируемых ИЛ-4 102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 106
ВЫВОДЫ 107
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ 108
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 110

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

АФК – активные формы кислорода

БСА – бычий сывороточный альбумин

Г3Ф – глицерол-3-фосфат

ДАГ – диацилглицерол

ДМЕМ – среда Дальбекко, модифицированная Иглом

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота,

ЖК – жирные кислоты

ЖТ – жировая ткань

ИЗО – изопротеренол

ИЛ – интерлейкин

ИР – инсулиновая резистентность

КоА – коэнзим А

ЛК – липидные капли

ЛПС – бактериальный липополисахарид

МАРК – киназа, активируемая митогенами; mitogen activated protein kinase

НАДН – никотинамидадениндинуклеотид восстановленный

НАД+ – никотинамидадениндинуклеотид окисленный

НАДФН – никотинамидадениндинуклеотидфосфат

ПКА – протеинкиназа А

РНК – рибонуклеиновая кислота, shРНК – малая шпилечная РНК,

СД2Т – сахарный диабет 2 типа

ТАГ – триацилглицерол

ТСХ – тонкослойная хроматография

ФАДН2 – флавинадениндинуклеотид восстановленный

ФНО – фактор некроза опухолей

ФБС – фетальная бычья сыворотка

ФСБ – фосфатно-солевой буфер

цАМФ - циклический аденозин монофосфат

ЦТК – цикл трикарбоновых кислот

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота

ЭПР – эндоплазматический ретикулум

ЭТЦ – электрон транспортная цепь

ABHD6 – липаза, содержащая α/β-гидролазный домен 6

ACC – ацетил-КоА карбоксилаза

ACLY – АТФ-цитрат лиаза

Akt – протеинкиназа B

ANOVA – дисперсионный анализ

AP-1 – активирующий белок 1

AS160 – субстрат Akt массой 160 кДа

ATF2/6 – активирующий фактор транскрипции 2/6

ATGL – адипоцитарная триглицерид липаза

CEBPα – белок, связывающий CCAAT энхансер α

Ces1d – карбоксилэстераза 1d

CGI-58 – comparative gene identification-58

ChREBP – белок, связывающий элементы ответа на углеводы

CIDE – cell death inducing DFFA like effector

CPT1 – картин пальмитоил трансфераза 1

CREB – белок, связывающий элементы ответа цАМФ

DAPI – 4',6-диамидино-2-фенилиндол

DGAT – диацилглицерол ацилтрансфераза

eIF2α – эукариотический фактор инициации трансляции 2α

Erk – киназа, регулируемая внешними стимулами; extracellular signal regulated kinase

FASN – синтаза жирных кислот

FCCP – карбонилцианид-п-трифторметоксифенилгидразон

FOXO1 – fork head box protein type 1

FGF21 – фактор роста фибробластов 21

FSP27 – fat-specific Protein 27

γc – γ-цепь

G0S2 – G0/G1 переключатель 2

GLUT – транспортер глюкозы

GDF15 – фактор роста и дифференцировки 15 типа

HIF-1α – фактор, индуцируемый гипоксией 1α

HSL – гормончувствительная липаза

IL-4Rα - α-субъединица рецептора ИЛ-4

IL-13Rα - α-субъединица рецептора ИЛ-13

IRS – субстрат инсулинового рецептора, insulin receptor substrate

IKK – киназа ингибиторной субъединицы IkB, IkB kinase

IRE1 – фермент, нуждающийся в инозитоле, 1 типа

JNK – N-концевая киназа фактора c-Jun; c-Jun NH2-terminal kinase

JAK – Janus киназа

LXR-α – печеночный X-рецептор

MGL – моноглицерид липаза

mTOR – мишень действия рапамицина, обнаруженная у млекопитающих; mTORC – комплекс киназы mTOR

NFκB – ядерный фактор κB

NK – натуральные киллеры

Opa1 – optic atrophy protein 1

PGC1 – peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1

PI3K – фосфоинозитид-3-киназа

PIP3 – фосфатидилинозитол-трис-фосфат

PDE3B – фосфодиэстераза 3B

PDK – киназа, зависимая от фосфоинозитидов;

PP2A – фосфатаза 2A

PPAR – рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами

PTP1B – тирозиновая фосфатаза белков 1B типа

PERK – PKR-подобная киназа эндоплазматического ретикулума

RIPA буфер – буфер для радиоиммунопреципитации

RXR – ретиноидный X-рецептор

STAT – сигнальный белок и активатор транскрипции

SH2-домен – домен Src-гомологии

SREBP – белок, связывающий регуляторные элементы стерола; sterol regulatory element binding protein type 1

TFE – транскрипционный фактор E

Th1/2 – T-хелперы 1/2 типа

TLR – толл-подобный рецептор 4

TNF-RSCI – сигнальный комплекс рецептора ФНОα I

TOMM20 – транслоказа наружной мембраны митохондрий 20

UCP1 – разобщающий белок внутренней мембраны митохондрий

UPR – ответ на несвернутые белки; unfolded protein response

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

По оценкам Всемирной федерации ожирения, в 2020 году 38% людей в мире в возрасте от 5 лет имели избыточную массу тела (индекс массы тела >25 кг/м^2) и 14% страдали от ожирения (индекс массы тела >30 кг/м^2). Ожидается, что распространенность ожирения вырастет до 24% населения к 2035 году и затронет почти 2 миллиарда человек по всему миру и более 40 млн человек в России (World Obesity Atlas, 2023). Важную роль в развитии ожирения и ассоциированных с ним метаболических патологий играет иммунная система. Хронический воспалительный процесс наблюдается при ожирении и сопутствующих заболеваниях: метаболическом синдроме, сахарном диабете 2 типа (СД2Т), сердечно–сосудистых и онкологических заболеваниях. Хроническое воспаление при ожирении развивается в жировой ткани (ЖТ) и является потенциальным триггером нарушения инсулиновой чувствительности и изменения метаболизма углеводов и липидов.

В физиологическом состоянии иммунофенотип ЖТ характеризуется наличием противовоспалительных иммунных клеток (М2–макрофагов, эозинофилов, Т-хелперов 2 типа) и секрецией цитокинов, подавляющих воспаление. Антивоспалительное микроокружение поддерживает инсулиновую чувствительность адипоцитов и способность к дифференцировке термогенных бежевых адипоцитов, способных расходовать избыточную энергию в виде тепла и снижать накопление триацилглицеридов (ТАГ).

При ожирении физиология ЖТ существенно изменяется. Чрезмерное потребление высокоэнергетических субстратов (простых углеводов, насыщенных жиров) приводит к метаболической перегрузке ЖТ, происходит ее увеличение для накопления большего количества ТАГ и предотвращения эктопического отложения липидов. Гипертрофия адипоцитов приводит к развитию гипоксии в ЖТ, возникновению окислительного стресса, стресса эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и гибели клеток. Все эти процессы способствуют активации

воспалительных сигнальных каскадов в адипоцитах и секреции провоспалительных цитокинов, привлекающих провоспалительные иммунные клетки. Таким образом, в ЖТ возникает самоподдерживающееся хроническое воспаление, которое может быть индуктором инсулиновой резистентности (ИР).

В связи с важной ролью воспаления в развитии ИР в ЖТ, противовоспалительная терапия может улучшить чувствительность к инсулину и предотвратить развитие осложнений у пациентов с ожирением или СД2Т. Несмотря на это, блокаторы действия провоспалительных цитокинов (интерлейкина 1β (ИЛ-1β) и фактора некроза опухоли α (ФНОα)) не используются в клинической практике для контроля гликемии, так как они не показали стойкой эффективности. Мы предложили альтернативный подход для воздействия на иммунный статус ЖТ, заключающийся в использовании антивоспалительного инсулинсенситизирующего цитокина интерлейкина-4 (ИЛ-4).

ИЛ-4 положительно влияет на инсулиновую чувствительность и углеводный обмен на системном уровне. Он способствует поддержанию толерантности к глюкозе и снижению веса животных в моделях ожирения. Позитивные эффекты ИЛ-4 связаны не только с активацией противовоспалительных иммунных клеток в ЖТ, но и с действием на метаболизм адипоцитов и их предшественников. Известно, что ИЛ-4 ингибирует адипогенез и активирует липолиз в адипоцитах, но точные механизмы регуляции и физиологическая значимость этих процессов остаются неясными.

В предыдущих работах нашей лаборатории было показано, что ИЛ-4 активирует в адипоцитах поглощение глюкозы и экспрессию метаболических белков, включающих ферменты окислительного метаболизма митохондрий. В настоящей работе мы исследовали механизмы метаболического действия ИЛ-4 в зрелых адипоцитах.

Цель и задачи исследования

Целью данной работы является изучение влияния противовоспалительного цитокина ИЛ-4 на углеводный и липидный метаболизм адипоцитов.

Задачи:

1. Исследовать роль ИЛ-4 в регуляции активности гликолиза и митохондриального окисления глюкозы в адипоцитах.

2. Оценить вклад STAT6 и IRS1 в регуляцию поглощения глюкозы под действием ИЛ-4.

3. Изучить влияние ИЛ-4 на активность липогенеза, липолиза и накопление липидных капель в адипоцитах.

4. Исследовать действие ИЛ-4 на термогенез в адипоцитах.

5. Оценить роль адипоцитарной триглицеридлипазы в регуляции термогенеза и митохондриальной активности под действием ИЛ-4.

Научная новизна работы

Проведено комплексное исследование действия противовоспалительного цитокина ИЛ-4 на метаболизм глюкозы и ТАГ жировых клеток. Показано, что ИЛ-4 усиливает поглощение глюкозы для последующего метаболизирования в ходе гликолиза и окислительного фосфорилирования, а не для активации липогенеза и запасания ТАГ. Исследованы некоторые механизмы стимуляции поглощения глюкозы интерлейкином-4 с использованием shРНК и ингибиторного анализа. Была подобрана последовательность shРНК, позволяющая снизить экспрессию STAT6 на 90%. Показано, что подавление экспрессии STAT6 не снижает активацию поглощения глюкозы в адипоцитах под действием ИЛ-4. Таким образом, подтверждено, что канонический ИЛ-4-зависимый транскрипционный фактор STAT6 не участвует в регуляции поглощения глюкозы в адипоцитах.

При анализе влияния ИЛ-4 на липидный метаболизм адипоцитов показано, что ИЛ-4 стимулирует липолиз и фрагментацию липидных капель. Обнаружено, что ИЛ-4

активирует липолиз по механизму, зависящему от активности адипоцитарной триглицеридлипазы (ATGL). Также отмечено, что фрагментация может происходить без участия ATGL.

Обнаружено, что зрелые адипоциты, стимулированные ИЛ-4, приобретают характеристики, свойственные термогенным бежевым адипоцитам: повышение температуры клеток, фрагментация липидных капель, активация липолиза и окисления глюкозы. В работе показано, что активация термогенеза и окисления глюкозы под действием ИЛ-4 в зрелых адипоцитах взаимосвязана с их липолитической активностью и происходит ATGL-зависимо. Полученные результаты позволили сформулировать гипотезу о способности ИЛ-4 изменять фенотип зрелых адипоцитов, способствовать образованию термогенных бежевых адипоцитов. При этом, активация термогенеза не сопровождается увеличением экспрессии термогенного белка внутренней мембраны митохондрий UCP1, но зависит от активности ATGL, одного из скорость-лимитирующих ферментов ТАГ цикла. Результаты работы позволяют предполагать, что ИЛ-4 активирует в адипоцитах неканонический механизм термогенеза, осуществляющийся за счет ускорения футильного ТАГ цикла.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Исследование содержит подробный анализ регуляции метаболизма глюкозы и ТАГ в жировых клетках под действием ИЛ-4. Полученные результаты подтверждают взаимную регуляцию иммунитета и метаболизма. Подтверждено, что ИЛ-4 активирует липолиз, и предложен новый механизм регуляции липолиза через фермент ATGL.

Показано, что ИЛ-4 оказывает влияние не только на отдельные метаболические пути, но и способен осуществлять метаболическое репрограммирование адипоцитов. ИЛ-4 одновременно активирует окисление глюкозы и липолиз в жировых клетках, что сопровождается выработкой тепла. Результаты позволяют предположить, что ИЛ-4 активирует футильный ТАГ-цикл, который повышает потребность в АТФ и активирует поглощение и окисление глюкозы. Наблюдаемая

активация катаболизма сопровождается высвобождением тепла – термогенезом. Работа обосновывает необходимость исследования роли неканонических путей термогенеза в утилизации избыточной глюкозы в адипоцитах. Результаты исследования могут помочь в разработке методов получения жировых клеток, специализирующихся на расходовании глюкозы и рассеивании заключенной в ней энергии в виде тепла, вместо синтеза и запасания ТАГ. ИЛ-4 является потенциальным индуктором образования бежевых адипоцитов для клеточной терапии ожирения и СД2Т.

Основные положения, выносимые на защиту

1. ИЛ-4 активирует поглощение глюкозы в адипоцитах для ее утилизации в ходе гликолиза и окисления в митохондриях.

2. Регуляция поглощения глюкозы под действием ИЛ-4 происходит без прямого участия STAT6.

3. ИЛ-4 не вызывает дополнительную стимуляцию канонической ветви инсулинового сигнального каскада, регулирующей активность поглощения глюкозы через GLUT4.

4. ИЛ-4 активирует фрагментацию липидных капель в жировых клетках, что способствует активации липолиза.

5. ИЛ-4 активирует термогенез и повышает энергетические потребности адипоцитов.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Результаты данной работы были представлены на международных и российских научных конференциях: Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике (Россия, Москва, 2022), European Society of Gene and Cell Therapy Congress 2021 (Великобритания, онлайн, 2021), 56th Annual Meeting of European Association for the Study of Diabetes (Австрия, онлайн, 2020), 7th Annual Meeting of the International Cytokine & Interferon Society (Австрия, Вена, 2019). По

теме диссертации было опубликовано 8 статей в рецензируемых зарубежных и российских журналах, индексируемых в Scopus и Web of Science.

Публикации автора по результатам исследования

По теме диссертации опубликовано 13 печатных работ, в том числе 8 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в международные базы реферативных данных Web of Science и Scopus и 5 публикаций в сборниках трудов российских и международных научных конференций.

Личный вклад автора

Все основные результаты были получены автором самостоятельно. Автор лично анализировала результаты и готовила статьи и тезисы для публикации. Анализ гликолитической и митохондриальной активности производился на базе НИИ ревматологии им. В.А. Насоновой в лаборатории иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний под руководством Четиной Е.В. Изотопный анализ проводили на базе службы изотопного анализа и радиационной безопасности ФГБУ НМИЦ кардиологии им.ак.Е.И.Чазова МЗ РФ (руководитель - Чусовитина О.К.), а также кафедры биохимии биологического факультета МГУ.

Структура и объем диссертационного исследования

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, полученных результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 149 страницах, иллюстрирована 19 рисунками и 1 таблицей. Список цитируемой литературы включает 333 наименования.

Связь работы с научными программами

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №17-34-80026 (руководитель проекта Стафеев Ю.С.), №20-015-00100 (руководитель проекта Стафеев Ю.С.), а также совместного российско-тайваньского гранта РНФ №20-45-08003 (руководитель проекта Меньшиков М.Ю.).

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Иммунометаболизм жировой ткани

Взаимосвязь между метаболизмом и иммунитетом известна с конца 19 века, когда была обнаружена ассоциация инфекционных и метаболических патологий. По результатам биомедицинских исследований последних трех десятилетий был сформулирован термин «иммунометаболизм», определяющий взаимодействие иммунитета и метаболизма (Chavakis, 2021). Взаимная регуляция этих двух важнейших биологических процессов имеет множество аспектов. Во-вервых, иммунные клетки и секретируемые ими цитокины могут регулировать метаболизм. Например, иммунные клетки, присутствующие в жировой ткани (ЖТ) или печени, регулируют гомеостаз этих тканей и метаболические функции, такие как липолиз и чувствительность к инсулину (Daemen et al., 2019; Remmerie et al., 2020). С другой стороны, потребляемые питательные вещества и продукты их метаболизма могут модулировать иммунные реакции (Lee et al., 2020). Исследования в области иммунометаболизма важны для понимания механизмов развития многих патологий, включающих ожирение, метаболический синдром, СД2Т, сердечно-сосудистые, аутоиммунные и онкологические заболевания (Chavakis, 2021).

В настоящее время признано, что иммунитет и воспаление играют важную роль в патогенезе алиментарного ожирения и сопутствующих кардиометаболических осложнений: инсулиновой резистентности (ИР), СД2Т, неалкогольной жировой болезни печени, атеросклероза, микрососудистых нарушений и др. (Hotamisligil, 2017; Blüher, 2019). Более того, хроническое воспаление при ожирении ассоциировано с тяжелым течением болезни при коронавирусной инфекции (Hamer et al., 2020). Роль хронического воспаления в развитии метаболических осложнений ожирения у человека подтверждается во многих исследованиях. Популяционные геномные исследования показали, что вариации в генах человека, регулирующих функции Т-клеток (*PTPRJ* и *CMIP*), макрофагов (*MAEA*), и в генах сигнальных путей воспаления (*WWOX, MAP8IP1, IFNGR1, ST6GAL1, JAZF1, MAP3K1, MACROD1, NFE2L3* и *TLR4*) связаны с риском развития СД2Т (Waeber et al., 2000;

Cho et al., 2011; Kooner et al., 2011; Shungin et al., 2015; Flannick et al., 2019; Liao et al., 2019; Diedisheim et al., 2020). Кроме того, ряд исследований ЖТ человека (Löfgren et al., 2000; Fabbrini et al., 2013; Hill et al., 2018), печени (Senn et al., 2002; Ghazarian et al., 2017), первичных адипоцитов (Liu et al., 1998), скелетных мышц (Austin et al., 2008) и поджелудочной железы (Maedler et al., 2002), поддерживают гипотезу о роли иммунитета в регуляции метаболизма (Pickup et al., 1997). Таким образом, понимание механизмов взаимодействия иммунных и метаболических реакций имеет ключевое значение для разработки терапевтических стратегий предотвращения ожирения и ассоциированных кардиометаболических осложнений.

Несмотря на то, что ассоциация воспаления и метаболических заболеваний активно исследуется на протяжении трех десятилетий, гипотезу, согласно которой хроническое воспаление вызывает ИР у человека, еще предстоит подтвердить. Согласно современным представлениям, центром развития воспаления при ожирении является ЖТ, что подробно описано в разделах 1.4 и 1.5. Тем не менее, остается неустановленной причинно-следственная связь между воспалением и ИР, так как некоторые исследования показывают, что ИР может выступать в роли активатора воспаления (Shimobayashi et al., 2018). Для успешной разработки терапевтических подходов к борьбе с ожирением и СД2Т необходимы исследования не только инициации воспаления при ожирении, но и неизвестных механизмов поддержания энергетического гомеостаза в норме с помощью противовоспалительных факторов. Одним из наиболее перспективных противовоспалительных медиаторов является ИЛ-4, который, как описано далее, регулирует метаболизм и чувствительность инсулинзависимых клеток к гормонам. В нашей работе мы исследуем роль ИЛ-4 в регуляции метаболизма адипоцитов, так как именно нарушение метаболизма ЖТ является центральным звеном в инициации хронического воспалительного процесса при ожирении. Вначале будет рассмотрена регуляция метаболизма глюкозы и липидов в жировых клетках в

норме, а далее описано влияние воспалительных медиаторов на энергетический гомеостаз.

1.2. Регуляция метаболизма глюкозы в адипоцитах

Метаболизм глюкозы в жировых клетках имеет ключевое значение для системного гомеостаза глюкозы и энергетического метаболизма. Несмотря на то, что ЖТ поглощает примерно 5% глюкозы, потребляемой с пищей (DeFronzo et al., 2009), нарушение поглощения глюкозы адипоцитами является одним из самых ранних проявлений системной инсулинорезистентности (Kraegen et al., 1991; Turner et al., 2013). Кроме того, ингибирование транспорта глюкозы в адипоцитах, вызывает ИР всего организма (Abel et al., 2001), тогда как активация поглощения глюкозы в жировых клетках повышает толерантность к глюкозе (Herman et al., 2012). Описанные наблюдения подтверждают, что поглощение и утилизация глюкозы в адипоцитах являются важными процессами для поддержания гомеостаза глюкозы во всем организме.

Транспорт глюкозы в адипоцитах осуществляется транспортерами глюкозы GLUT1 (инсулиннезависимый) и GLUT4 (инсулинзависимый) по механизму облегченной диффузии. Далее глюкоза фосфорилируется и может включаться в метаболические пути. Так как основным активатором метаболизма глюкозы в адипоцитах является инсулин (Foley et al., 1980; White et al., 2021; Calejman et al., 2022), далее будет рассмотрен метаболизм глюкозы под его действием.

Инсулин является наиболее сильным анаболическим гормоном в организме человека и животных. Он представляет собой гормон белковой природы, продуцируемый β-клетками поджелудочной железы. В адипоцитах инсулин стимулирует поглощение глюкозы, *de novo* липогенез и подавляет липолиз (Saltiel et al., 2001).

Современные методы детекции стабильных изотопов позволили расширить представления о включении глюкозы в различные метаболические пути и о скорости ее превращения под действием инсулина в адипоцитах. Исследования

метаболизма ^{13}C-глюкозы в адипоцитах 3T3-L1 показывают, что глюкоза быстро (10 – 40 мин) метаболизируется в ходе гликолиза, а также пентозофосфатного пути (Krycer et al., 2017). Пентозофосфатный путь активен в адипоцитах, так как он снабжает клетки НАДФН, используемым для синтеза ТАГ. Гликолиз необходим адипоцитам для синтеза глицеральдегид-3-фосфата, из которого затем может образовываться глицерол-3-фосфат (Г3Ф), на основе которого синтезируются ТАГ. Г3Ф может синтезироваться и из других метаболитов гликолиза (пирувата и фосфоенолпирувата) в процессе глицеронеогенеза, важнейшими ферментами которого являются пируват карбоксилаза и фосфоенолпируват карбоксикиназа 1. В то же время, значительная часть пирувата, образовавшегося в ходе гликолиза, превращается в лактат (DiGirolamo et al., 1992; Krycer et al., 2017; Krycer et al., 2020), что имеет важное значение для регенерации $НАД^+$ и поддержания высокой активности гликолиза.

Гликолиз поставляет субстраты для цикла трикарбоновых кислот (ЦТК), и как следствие, для синтеза жирных кислот (ЖК). Образовавшийся в ходе гликолиза пируват может входить в ЦТК через превращение пируватдегидрогеназным комплексом в ацетил-КоА или через анаплеротическую реакцию превращения пирувата в оксалоацетат под действием пируват карбоксилазы. Обе эти реакции позволяют глюкозе быть потенциально единственным или, по крайней мере, основным источником атомов углерода для продукции цитрата (Calejman et al., 2022), экспортируемого из митохондрий для *de novo* синтеза ЖК, описанного в Разделе 1.3.

Помимо источника углеродных скелетов в синтетических процессах, глюкоза является важнейшим энергетическим субстратом адипоцитов. При окислении глюкозы как в ходе гликолиза, так и окислительного фосфорилирования в клетке образуется достаточное количество АТФ для активации ЖК, необходимой для их включения в синтез ТАГ или в окислительные процессы.

Описанные выше метаболические пути утилизации глюкозы в жировых клетках координируются через активацию инсулинового сигнального каскада. Сигнальный

путь инсулина обусловлен тирозинкиназной активностью рецептора инсулина, который имеет несколько субстратов, активирующих сигнальные пути митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK), фосфоинозитид-3 киназы (PI3K) и CAP/Cbl путь (White et al., 2021).

Метаболические эффекты инсулина в адипоцитах в основном обусловлены активацией PI3K сигнального каскада, который начинается с фосфорилирования субстрата инсулинового рецептора (IRS). В организме человека и животных присутствуют несколько изоформ IRS, но наиболее распространены IRS1 и IRS2. Все белки IRS имеют домены плекстриновой гомологии и фосфотирозин связывающие домены, важные для ассоциации с мембраной и рецептором. Кроме того, белки IRS содержат длинную неструктурированную последовательность аминокислот с 14 участками фосфорилирования по остаткам тирозина, необходимые для активации сигнального ответа на инсулин. Белки IRS также содержат >50 участков фосфорилирования по остаткам серина и треонина, через которые осуществляется регуляция работы IRS по механизму отрицательной обратной связи (Copps et al., 2012). При стимуляции инсулином белки IRS рекрутируются к фосфорилированному мотиву в околомембранном участке инсулинового рецептора (White et al., 1988), что облегчает фосфорилирование остатков тирозина в IRS. В итоге, адаптерные белки IRS, фосфорилированные по остаткам тирозина, способны связываться с различными нижестоящими сигнальными белками, наиболее важным из которых является PI3K (Backer et al., 1992). PI3K катализирует реакцию образования фосфатидилинозитол-3,4,5-трифосфата (PIP3), активирующего PIP3-зависимую киназу (PDK1) и сигнальный комплекс mTORC2 (мишень рапамицина млекопитающих, комплекс 2). PDK1 фосфорилирует протеинкиназу B (Akt) по остатку треонина (T308), в то время как mTORC2 фосфорилирует остаток серина (S473) в Akt (Yang et al., 2015a). Это приводит к активации Akt, которая фосфорилирует и регулирует более 100 субстратов (Hers et al., 2011). Под действием Akt наблюдается инактивация белка AS160, что снимает его ингибиторное действие на транслокацию везикул с

транспортером глюкозы GLUT4 в плазматическую мембрану. Активация поглощения глюкозы через GLUT4 сопровождается активацией гликолиза путем фосфорилирования фосфофруктокиназы-2, синтезирующей фруктозо-2,6-бисфосфат для аллостерической активации фосфофруктокиназы-1, катализирующей скорость-лимитирующую стадию гликолиза (Rider et al., 2004).

При активации сигнального каскада инсулина возрастает скорость синтеза липидов и гликогена вследствие Akt-зависимой регуляции фосфоенолпируват карбоксикиназы 1, mTORC1, транскрипционного фактора SREBP (белок, связывающий регуляторный элемент стерола) и киназы гликогенсинтазы 3β. Другой важной мишенью Akt является семейство транскрипционных факторов FOXO (forkhead box protein O1). Ядерная локализация FOXO регулируется посттрансляционными модификациями, в особенности Akt-опосредованным фосфорилированием, которое приводит к выходу FOXO из ядра, снижению экспрессии его генов-мишеней (Brown et al., 2018; Zhang et al., 2019) и усилению адипогенной дифференцировки (Lee et al., 2017a).

Описанные механизмы регуляции метаболизма глюкозы под действием инсулина обеспечивают запасающую функцию ЖТ. Помимо запасания энергии адипоциты могут использовать глюкозу для выполнения термогенной функции. Термогенез в ЖТ представляет собой процесс образования тепла в ходе окисления высокоэнергетических молекул без накопления АТФ. Канонический механизм термогенеза осуществляется разобщающим белком внутренней мембраны митохондрий (UCP1). UCP1 диссипирует H^+ градиент на мембране митохондрий без синтеза АТФ, что приводит к активации работы электрон транспортной цепи (ЭТЦ) и увеличению скорости окислительных процессов. Основным источником энергии для термогенеза является β-окисление ЖК, но могут использоваться и другие энергетические субстраты (Hankir et al., 2018; Chouchani et al., 2019).

Термогенез активен в специализированных бежевых и бурых адипоцитах, морфология и метаболизм которых значительно отличается от белых адипоцитов, специализирующихся на запасании ТАГ. Бурые адипоциты обладают наибольшей

способностью к термогенезу, так как содержат большое количество митохондрий с высокой экспрессией UCP1. Они локализуются в организме человека в ограниченных областях и образуются из миогенных клеток-предшественниц. Бежевые адипоциты представляют собой клетки с промежуточными свойствами. Они имеют общие с белыми адипоцитами клетки-предшественницы, локализуются в белых жировых депо и обладают способностью к индуцибельному термогенезу (Sanchez-Gurmaches et al., 2014; Sanchez-Gurmaches et al., 2016; Jung et al., 2019).

Метаболизм глюкозы в бурых и бежевых адипоцитах активируется инсулином так же, как в белых жировых клетках. Отличие в регуляции метаболизма глюкозы в термогенных адипоцитах заключается в действии катехоламинов, а именно, норадреналина. Норадреналин является важнейшим регулятором липидного метаболизма и термогенеза, что описано в разделе 1.3, но также принимает участие в активации утилизации глюкозы. Норадреналин высвобождается симпатическими нервными окончаниями и M2-макрофагами в ЖТ в ответ на холодовую стимуляцию и активирует β3-адренорецепторы адипоцитов (Cannon et al., 2004; Tang et al., 2016; Hankir et al., 2018). Поглощение глюкозы под действием норадреналина активируется через GLUT1 и GLUT4, но основной вклад вносит активация экспрессии и транслокации GLUT1 (Dallner et al., 2006; Olsen et al., 2014). Дальнейшая судьба глюкозы в термогенных адипоцитах во многом напоминает метаболизм в белых жировых клетках. При активации β3-адренорецепторов в термогенных адипоцитах запускается пентозофосфатный путь, гликолиз, глицеронеогенез, синтез гликогена, синтез цитрата в митохондриях и *de novo* липогенез (Hankir et al., 2018).

Описанные анаболические процессы необходимы термогенным адипоцитам для накопления и восполнения ТАГ, затрачиваемых в ходе термогенеза. В итоге, термогенные адипоциты активно расходуют глюкозу, так как синтезированные из нее липиды быстро окисляются в ходе термогенеза, что подробно описано в следующем разделе. Бежевые адипоциты являются перспективной мишенью для борьбы с гипергликемией и другими метаболическими нарушениями благодаря

высокой катаболической активности. При этом в отличие от бурых, бежевые адипоциты могут активно образовываться в организме взрослого человека путем трансдифференцировки из белых жировых клеток или дифференцировки из прогениторных клеток ЖТ, что значительно упрощает трансляцию новых регуляторов термогенеза в клиническую практику (Shao et al., 2019; Singh et al., 2020).

Таким образом, утилизация глюкозы в адипоцитах происходит путем запасания в виде липидов под действием инсулина или путем окисления при стимуляции норадреналином. Важно, что и катаболический и анаболический пути утилизации глюкозы проходят через стадию синтеза ТАГ, что подтверждает тесную взаимосвязь между углеводным и липидным метаболизмом в адипоцитах. В следующем разделе подробно рассмотрена регуляция метаболизма ТАГ в жировой ткани.

1.3. Регуляция метаболизма липидов в адипоцитах

Жировая ткань играет роль буфера энергии, так как она запасает ее при избытке питательных веществ и высвобождает для доставки в другие ткани при голодании. Энергия хранится внутри адипоцитов преимущественно в виде ТАГ, представляющих собой сложные эфиры ЖК и глицерина. Хранение ТАГ в составе липидных капель (ЛК) является наиболее эффективной и безопасной формой запасания энергии благодаря их инертности и высокой энергии расщепления.

Синтез ТАГ (липогенез) включает три процесса: синтез ЖК, синтез Г3Ф и этерификацию ЖК с Г3Ф. Источниками ЖК в составе ТАГ могут служить циркулирующие в крови липопротеины и *de novo* синтез ЖК в адипоцитах (Smith et al., 2020). 98 % ЖК в адипоците являются экзогенными и получены после гидролиза ТАГ в составе липопротеинов. В ответ на инсулин липопротеинлипаза ЖТ гидролизует ТАГ в липопротеинах на глицерин и ЖК, последние попадают в адипоциты и включаются в ТАГ (Czech et al., 2013). Оставшиеся 2% ЖК синтезируются в процессе *de novo* липогенеза из углеводов, аминокислот и ацетата

за счет последовательности ферментативных реакций, которые приводят к синтезу ацетил-КоА. Углеводы и аминокислоты метаболизируются до образования цитрата в митохондриях, который экспортируется в цитозоль, где расщепляется АТФ-цитрат лиазой (ACLY) на оксалоацетат и ацетил-КоА. В альтернативном пути цитозольный ацетил-КоА образуется путем активации ацетата ацетил-КоА-синтетазой 2. Затем ацетил-КоА карбоксилируется с образованием малонил-КоА за счет каталитической активности ацетил-КоА карбоксилазы (ACC). Наконец, синтаза жирных кислот FASN использует малонил-КоА для образования новой ацильной цепи путем последовательного присоединения двухуглеродных звеньев, образуя пальмитиновую кислоту (C16:0) (Wallace et al., 2020). Сама пальмитиновая кислота и продукты ее удлинения и десатурации могут запасаться в ТАГ или использоваться на нужды клетки.

Липогенез *de novo* выполняет несколько функций в адипоцитах (Song et al., 2018; Wallace et al., 2020). В дополнение к преобразованию избытка питательных веществ в ЖК для хранения в виде ТАГ, липогенез является важным источником сигнальных липидов, таких как пальмитолеат и гидрокси-ЖК, которые регулируют инсулиновую чувствительность (Cao et al., 2008; Yore et al., 2014). Липогенез также может быть источником лигандов для факторов транскрипции, таких как семейство PPAR, которые важны для дифференцировки адипоцитов (Lodhi et al., 2012). Новые исследования также подтверждают, что *de novo* липогенез в адипоцитах является важным источником ЖК для мембранных фосфолипидов (Grunt et al., 2020).

В отличие от ЖК, которые могут поступать из экзогенных источников, Г3Ф синтезируется внутри адипоцита. Г3Ф не может быть синтезирован из свободного глицерола, так как в белых адипоцитах фермент глицеролкиназа экспрессируется на низком уровне (Tissue expression of GK - Summary - The Human Protein Atlas, 2023). Основными предшественниками Г3Ф в адипоцитах являются глюкоза, пируват, лактат и глюкогенные аминокислоты. Г3Ф синтезируется напрямую из глюкозы, когда она окисляется в ходе гликолиза до дигидроксиацетонфосфата, который можно превратить в Г3Ф с помощью фермента Г3Ф-дегидрогеназы. Когда

пируват или лактат используются в качестве предшественника ГЗФ, протекает процесс глицеронеогенеза. В ходе глицеронеогенеза под действием ферментов пируват карбоксилазы и фосфоенолпируват карбоксикиназы пируват превращается в оксалоацетат, а затем в фосфоенолпируват. После этого в ходе обратных гликолитических реакций образуется дигидроксиацетонфосфат, предшественник ГЗФ (Forest et al., 2003; Cadoudal et al., 2007; Hankir et al., 2018; Possik et al., 2021).

ЖК и ГЗФ подвергаются в адипоцитах реакциям этерификации и дефосфорилирования с помощью ферментов глицерол-3-фосфат-О-ацилтрансферазы, 1-ацил-глицерин-3-фосфат ацилтрансферазы, липина 1 и диацилгулицерол-О-ацилтрансферазы (DGAT). В итоге, образуется ТАГ (Yu et al., 2018; Olzmann et al., 2019).

Основным физиологическим стимулом для активации липогенеза является необходимость запасания избыточных энергетических субстратов. После приема пищи адипоциты поглощают глюкозу и используют ее для синтеза ТАГ и накопления в липидных каплях.

Активация липогенеза осуществляется различными гормонами, важнейшими из которых являются инсулин и трийодтиронин. Они регулируют липогенез через несколько хорошо изученных транскрипционных факторов, включающих SREBP1c и белок, связывающий элементы ответа на углеводы (ChREBP). ChREBP является доминирующим липогенным фактором в адипоцитах (Iizuka et al., 2004). Он активируется при повышении концентрации в клетке простых углеводов (глюкозы и фруктозы) и промежуточных соединений гликолиза. Инсулин косвенно активирует ChREBP за счет увеличения поглощения глюкозы. Помимо липогенеза, ChREBP регулирует гликолиз и пентозофосфатный путь, которые обеспечивают липогенез субстратами и восстановительными эквивалентами (Iizuka et al., 2004; Baraille et al., 2015). Трийодотиронин стимулирует транскрипцию ферментов *de novo* липогенеза (FASN, ACC1 и ACLY) через ядерный рецептор гормона щитовидной железы (Christoffolete et al., 2004; Bianco et al., 2019).

Инсулин активирует липогенез и через посттрансляционные модификации ферментов: пируватдегидрогеназного комплекса и ацетил-КоА карбоксилазы. Инсулин стимулирует фосфатазу пируватдегидрогеназы, активируя ее и обеспечивая превращение пирувата в ацетил-КоА (Petersen et al., 2018). Повышенный уровень ацетил-КоА увеличивает скорость ЦТК и образования цитрата, направляемого в липогенез. Аналогично, активность ACC регулируется инсулином через дефосфорилирование за счет активации фосфатазы PP2A. Стимуляция ACC увеличивает скорость превращения ацетил-КоА в малонил-КоА, который является не только основой синтеза ЖК, но и отрицательным регулятором их окисления. ЖК с длинной цепью, напротив, являются отрицательными аллостерическими регуляторами ACC, поэтому при избытке ЖК с длинной цепью синтез ЖК останавливается (Petersen et al., 2018; Calejman et al., 2022).

При необходимости использования энергии, заключенной в ТАГ, в адипоцитах активируется процесс их гидролиза (липолиз) с образованием глицерина и ЖК. Гидролиз ТАГ катализируется липазами. Наиболее важными липазами нейтральных липидов в адипоцитах являются адипоцитарная триглицерид липаза (ATGL), гормончувствительная липаза (HSL) и моноацилглицерид липаза (MGL), которые катализируют 90% липолитических реакций (Grabner et al., 2021). ATGL катализирует первую реакцию в расщеплении ТАГ, в результате которой образуется диацилглицерол (ДАГ) и высвобождается одна молекула ЖК. ATGL также обладает способностью в небольшой степени гидролизовать ДАГ, глицерофосфолипиды и ретиноловые эфиры (Jenkins et al., 2004; Brejchova et al., 2021). Затем, ДАГ расщепляется HSL до ЖК и моацилглицерида. HSL проявляет широкую субстратную специфичность и способна также гидролизовать эфиры холестерина и, с меньшей активностью, ТАГ и моноацилглицериды (Recazens et al., 2021). Моноацилглицериды гидролизуются MGL с образованием глицерина и ЖК (Karlsson et al., 1997). Известно, что в дополнение к MGL несколько других ферментов (например, липаза ABHD6) способны гидролизовать моноглицериды (Thomas et al., 2013).

Основным физиологическим стимулом для активации липолиза является потребность в энергетических субстратах во время голодания, когда уровень глюкозы в крови снижается. В условиях голодания ЖТ выделяет ЖК в кровь для снабжения других тканей и органов энергией, а после приема пищи активность липолиза снижается до базального состояния.

Индукция липолиза осуществляется многими эндокринными, паракринными и аутокринными факторами, включая гормоны, цитокины и нейротрансмиттеры, запускающие основные липолитические ферменты ATGL и HSL на уровнях транскрипции, посттрансляционных модификаций белков и регуляции ко-активаторов и ингибиторов ферментов (Grabner et al., 2021). Катехоламины (адреналин и норадреналин) являются классическими активаторами ATGL и HSL. Другие активирующие гормоны и цитокины включают глюкокортикоиды, гормоны щитовидной железы, эйкозаноиды, предсердные натрийуретические пептиды, гормон роста, интерлейкины, ФНОα, лептин и многие другие (Frühbeck et al., 2014). Инсулин представляет собой классический негативный регулятор активности ATGL и HSL.

Активация липолиза через транскрипционные механизмы осуществляется белками из различных семейств ядерных рецепторов, включающих PPAR (рецепторы, активируемые пероксисомными пролифераторами), ретиноидный X-рецептор (RXR), печеночный X-рецептор (LXR-α), SREBP, сигнальный белок и активатор транскрипции 5 (STAT5) и адипогенные транскрипционные факторы: TFE3 и белок, связывающий CCAAT энхансер (CEBPα). Гены ATGL и HSL являются непосредственными мишенями PPAR. Хотя изоформы белков семейства PPAR оказывают различные и, зачастую, противоположные эффекты на метаболизм адипоцитов (PPARγ активирует накопление липидов, PPARα - окисление липидов), все они активируют экспрессию ATGL и HSL, так как активный липидный метаболизм адипоцитов требует возможности быстрой активации заранее синтезированных липаз с помощью посттрансляционных механизмов.

Канонический сигнальный путь активации липолиза в адипоцитах включает связывание катехоламинов с β-адренэргическими рецепторами. При связывании гормона α-субъединица Gs-белка, связанного с рецептором, диссоциирует и стимулирует аденилатциклазу, синтезирующую цАМФ (Steinberg et al., 1972). цАМФ активирует протеинкиназу А (ПКА), которая фосфорилирует HSL (по остаткам S552, S649 и S650) и перилипин-1 (по остаткам S81, S222, S276, S433, S492 и S517) (Kimmel et al., 2016). Перилипин-1 является регуляторным белком поверхности ЛК, который координирует доступ ферментов к их поверхности. В базальном состоянии перилипин-1 ограничивает привлечение липаз к ЛК, а в фосфорилированном состоянии, наоборот, способствует рекрутированию HSL и высвобождению белка CGI-58, коактиватора ATGL. Фосфорилирование самой HSL также необходимо для транслокации к поверхности ЛК и активации фермента (Yu et al., 2020). Активация липолиза по описанному механизму может осуществляться не только с помощью ПКА, но и протеинкиназы G и Erk1/2 (Greenberg et al., 2001; Carper et al., 2020). В итоге, образовавшиеся ЖК могут транспортироваться из адипоцитов, подвергаться реэтерификации с повторным образованием ТАГ внутри клетки или отправляться в окислительные процессы. Белые адипоциты в основном секретируют ЖК в кровь для снабжения других тканей и органов энергией во время ее дефицита. Бежевые и бурые адипоциты используют ЖК иначе, так как их физиологическая роль заключается в осуществлении термогенеза.

В термогенных адипоцитах ЖК являются важнейшим источником энергии для продукции тепла, а липолиз играет ключевую роль в термогенезе, поэтому механизмы его регуляции в бежевых адипоцитах имеют ряд особенностей.

Для повышения эффективности липолиза термогенные адипоциты накапливают липиды в виде большого количества мелких ЛК, что увеличивает доступность ТАГ для липаз. Морфология ЛК и экспрессия ассоциированных с ними регуляторных белков определяет активность липолиза, как описано в нескольких примерах выше (перилипин-1, CGI-58). В термогенных адипоцитах в активации липолиза

принимают участие несколько изоформ перилипина. Например, перилипин-5 активирует термогенез за счет формирования контактов между митохондриями и ЛК, активации поглощения экзогенных ЖК, биогенеза и окислительной активности митохондрий (Gallardo-Montejano et al., 2021).

В дополнение к перилипинам, семейство белков CIDE (cell death inducing DFFA like effector) играет важную роль в регуляции динамики ЛК и, как следствие, метаболизма липидов. Экспрессия белков CIDE (CIDEA, CIDEB и CIDEC/FSP27) взаимосвязана с энергетической активностью адипоцитов. CIDEA и CIDEB экспрессируются в термогенной жировой ткани и играют роль в стимуляции липолиза и окисления ЖК. CIDEC имеет высокую экспрессию в белой жировой ткани, где он участвует в слиянии ЛК, уменьшении площади их поверхности, доступной для липаз, что ассоциировано со сниженной липолитической активностью белых адипоцитов (Slayton et al., 2019; Chen et al., 2020). Таким образом, уменьшение размера ЛК в адипоцитах регулируется белками на их поверхности и способствует быстрой мобилизации липидов, в особенности при термогенезе.

ЖК, образовавшиеся в ходе липолиза в термогенных адипоцитах, направляются в митохондриальное окисление. Для этого необходимо образование ацил-КоА, а затем присоединение к остатку ЖК карнитина ферментом карнитин-пальмитоил трансфераза 1 (CPT1). Ацил-карнитины транспортируются внутрь митохондрий специфическими переносчиками, где они вновь превращаются в ацил-КоА и подвергаются β-окислению, которое снабжает ЭТЦ энергией для продукции тепла. Активность окисления ЖК регулируется через карнитин-пальмитоил трансферазы. Белые адипоциты, в отличие от бежевых, характеризуются низкой экспрессией этих ферментов, что связано с низкой активностью окисления ЖК (Lee et al., 2015; Calderon-Dominguez et al., 2016; Gonzalez-Hurtado et al., 2017).

Термогенные адипоциты обладают еще одной важной отличительной особенностью липидного метаболизма. В отличие от белых адипоцитов в них происходит одновременная активация липолиза и липогенеза. Показано, что при

активации β3-адренорецепторов происходит стимуляция не только липолиза, но и основных регуляторов и ферментов липогенеза: ChREBP, йодтирониндейодиназы 2 (катализирует образование трийодтиронина из тироксина), ACLY, ACC, FASN и др. Активация липогенеза при термогенезе необходима для восполнения запасов ТАГ, которые активно гидролизуются и снабжают термогенез энергией. Так как синтез и распад ТАГ являются конкурирующими процессами с многочисленными механизмами взаимной отрицательной регуляции, эти процессы происходят в различных компартментах термогенных адипоцитов (Hankir et al., 2018; Guilherme et al., 2023). Известно, что в адипоцитах могут сосуществовать несколько популяций ЛК и митохондрий, специализирующихся на накоплении или распаде липидов (Benador et al., 2018). Формирование таких популяций контролируется большим количеством белков поверхности ЛК, митохондрий и ЭПР (Olzmann et al., 2019).

Таким образом, метаболизм запасных липидов в жировых клетках подвергается тонкой многоуровневой регуляции. Метаболизм ТАГ зависит от функциональной специализации адипоцитов. Белые адипоциты выполняют роль буферов энергии, так как накапливают или высвобождают энергию в ответ на потребности организма. Бежевые и бурые адипоциты обладают уникальным липидным метаболизмом. Важнейшей их особенностью является возможность одновременного протекания процессов синтеза и распада ТАГ, регулируемого через динамику органелл и компартментализацию процессов. Термогенные адипоциты активно окисляют высокоэнергетические молекулы с образованием тепла и без накопления липидов, поэтому активация их образования имеет потенциал для разработки новых подходов к терапии ожирения и метаболических заболеваний.

При ожирении развитие хронического воспалительного процесса нарушает функционирование большинства метаболических путей адипоцитов, описанных в разделах 1.2 и 1.3, что приводит к нарушению системного энергетического гомеостаза и развитию метаболических заболеваний. Нарушение метаболизма

происходит вследствие снижения чувствительности адипоцитов к гормонам. При развитии резистентности к инсулину снижается поглощение глюкозы, активируется липолиз и высвобождение ЖК из адипоцитов. Кроме того, снижение поступления глюкозы нарушает синтез Г3Ф и активацию липогенного транскрипционного фактора ChREBP, что нарушает реэтерификацию ЖК. В итоге, ЖТ выполняет функцию буфера энергии менее эффективно, избыточные ЖК направляются в печень и мышцы, активируя механизмы липотоксичности (Petersen et al., 2018). Хроническое воспаление при ожирении затрагивает не только белую ЖТ, но и нарушает термогенную функцию бурой и бежевой ЖТ (Bluemel et al., 2020; Wandrer et al., 2020). Далее мы сосредоточимся на предполагаемых механистических связях между воспалением и нарушением метаболизма адипоцитов при ожирении.

1.4. Роль хронического воспаления ЖТ в развитии метаболических нарушений при ожирении

Ожирение развивается при нарушении системного энергетического гомеостаза, когда поступление питательных веществ в течение длительного времени превышает энергетические потребности организма, увеличивается запасание энергии в виде ТАГ и гликогена в ЖТ. Точные механизмы индукции ИР при ожирении до сих пор не определены, но существует несколько гипотез. Причинами нарушения чувствительности к инсулину может быть метаболическая перегрузка инсулинзависимых клеток, накопление токсичных метаболитов (диацилглицеролов, церамидов, аминокислот с разветвленной боковой цепью) и индукция воспаления (Petersen et al., 2018). Вероятно, все описанные процессы принимают участие в развитии системной ИР, но в ЖТ основным фактором является хронический воспалительный процесс, так как ее функциональное состояние регулируется иммунными клетками.

Среди иммунных клеток ЖТ макрофаги являются наиболее значимым типом клеток с точки зрения их количества и функции. Макрофаги могут приобретать провоспалительный (M1-поляризация) и антивоспалительный (M2-поляризация)

фенотип, а также широкий спектр промежуточных фенотипов (Lee et al., 2021). Поляризация в M1 направлении происходит в ответ на провоспалительные стимулы, такие как бактериальные липополисахариды (ЛПС) и провоспалительные цитокины. M1 макрофаги выполняют фагоцитарную и бактерицидную функции, секретируют провоспалительные цитокины Th1-типа (характерны для Т-хелперов 1 типа: ФНОα, интерферон γ, ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-12), которые могут рекрутировать и активировать другие типы провоспалительных иммунных клеток: нейтрофилы, натуральные киллеры (NK), дендритные клетки, $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки (Baat de et al., 2023). С другой стороны, макрофаги M2 активируются в присутствии антивоспалительных цитокинов Th2-типа (характерны для Т-хелперов 2 типа: ИЛ-4, ИЛ-13, ИЛ-5, ИЛ-10). Макрофаги M2 впоследствии высвобождают свои собственные цитокины Th2-типа, чтобы координировать активацию эозинофилов и лимфоцитов врожденного иммунитета 2-го типа. Вместе они выполняют гомеостатическую роль и регулируют ремоделирование тканей (Lumeng et al., 2007).

В норме иммунные механизмы способствуют поддержанию энергетического гомеостаза ЖТ за счет поддержания антивоспалительного микроокружения Th2-типа (Chmelar et al., 2013; Brestoff et al., 2015; Hotamisligil, 2017; Chung et al., 2018). Кроме того, сами адипоциты секретируют адипонектин и другие адипокины, снижающие активацию воспаления. Адипоциты и эндотелиальные клетки секретируют ИЛ-33 и активируют резидентные лимфоциты врожденного иммунитета 2 типа, стимулирующие эозинофилы через высвобождение ИЛ-5 и ИЛ-13. В свою очередь, эозинофилы секретируют ИЛ-4 и приводят к M2 поляризации резидентных макрофагов, которые также продуцируют Th2-цитокины (Kammoun et al., 2014).

Дополнительным источником противовоспалительных цитокинов в ЖТ являются регуляторные Т-клетки и инвариантные NK Т-клетки. Регуляторные Т-клетки в норме являются наиболее распространенной субпопуляцией $CD4^+$ Т-клеток в ЖТ (Feuerer et al., 2009; Zeng et al., 2018). Они могут модулировать активность других

Т-клеток, ингибировать миграцию моноцитов и активировать их противовоспалительную поляризацию (Romano et al., 2018). Таким образом, в норме иммунные клетки в составе ЖТ и синтезируемые ими цитокины способствуют созданию противовоспалительного микроокружения.

При ожирении иммунный профиль ЖТ изменяется, переходя в хроническое воспалительное состояние, которое постепенно становится системным и приводит к ИР и нарушению энергетического метаболизма (Alexaki et al., 2016; Hotamisligil, 2017; Man et al., 2017; Blüher, 2019; Makowski et al., 2020). Провоспалительные цитокины, высвобождаемые ЖТ при ожирении, включают хемокины (например, моноцитарный хемоаттрактантный белок-1), что инициирует рекрутирование новых иммунных клеток (Hotamisligil, 2017). Помимо привлечения иммунных клеток в ЖТ из кровотока, при ожирении также наблюдается усиление их пролиферации и удержания в ЖТ (Ramkhelawon et al., 2014; Zamarron et al., 2017). В итоге, в жировой ткани повышается количество макрофагов, а также происходит их поляризация в M1-подобный фенотип, при котором наблюдается увеличение секреции провоспалительных цитокинов, активация липидного метаболизма и фагоцитарной активности.

Помимо рекрутирования макрофагов при ожирении происходит дополнительное рекрутирование других клеток врожденного иммунитета (нейтрофилов, NK-клеток, NKT-клеток 2 типа, тучных клеток и дендритных клеток), а также клеток адаптивного иммунитета Th1-типа ($CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток и В-клеток), что способствует воспалению за счет секреции провоспалительных медиаторов и иммуноглобулинов G (Nishimura et al., 2009; Winer et al., 2009). Количество противовоспалительных регуляторных Т-клеток, напротив, снижается при ожирении (Feuerer et al., 2009). Таким образом, при ожирении иммунный фенотип ЖТ нарушается, происходит изменение популяционного состава иммунных клеток и их секреторного профиля, что обеспечивает поддержание хронического латентного воспаления в ЖТ. При длительном ожирении и СД2Т хроническое

воспаление наблюдается не только в ЖТ, но и в печени, желудочно-кишечном тракте, поджелудочной железе и мышцах (Saltiel et al., 2017).

1.5. Механизмы индукции воспаления и ИР в ЖТ при ожирении

Развитие воспаления в ЖТ при ожирении и чрезмерном потреблении высококалорийной пищи показано в многочисленных исследованиях физиологии человека и животных. Несмотря на это, первичный триггер хронического воспаления в ЖТ до сих пор неизвестен, и, вероятно, включает ряд факторов, возникающих в результате гипертрофии и метаболической перегрузки адипоцитов при ожирении.

При продолжительном чрезмерном потреблении энергетических субстратов происходит увеличение ЖТ для запасания избыточной энергии в виде ТАГ и для предотвращения эктопического отложения липидов. Для этого требуется ремоделирование жировых депо, которое происходит под контролем провоспалительных медиаторов. Этот первоначальный воспалительный ответ является адаптивным. Если увеличение ЖТ продолжается и развивается ожирение, метаболическая нагрузка на адипоциты растет, и в ЖТ устанавливается хроническое латентное воспаление, которое приводит к таким патологическим явлениям, как ИР (Lee et al., 2021).

Несколько молекулярных механизмов, действующих в адипоцитах при метаболическом стрессе, были предложены в качестве возможных регуляторов воспаления ЖТ. Эти механизмы включают гипоксию, механическое напряжение, ремоделирование внеклеточного матрикса, накопление токсичных метаболитов, окислительный стресс, стресс ЭПР и гибель жировых клеток. Далее описаны несколько возможных триггеров воспаления ЖТ и их влияния на метаболизм адипоцитов.

Взаимосвязь между алиментарным ожирением и развитием воспаления может осуществляться за счет сигнальных свойств самих метаболитов. Известно, что при ожирении и высокожировой диете наблюдается дислипидемия и повышение

уровня свободных ЖК в крови, которые могут активировать воспалительные пути в различных клетках, включающих адипоциты и макрофаги. К примеру, насыщенная ЖК пальмитат активирует рецептор распознавания паттернов патогенности TLR4 (толл-подобный рецептор 4) в адипоцитах, что приводит к активации провоспалительного сигнального пути через N-концевую киназу c-Jun (JNK) (Shi et al., 2006; Kim et al., 2007; Davis et al., 2008; Håversen et al., 2009; Pal et al., 2012).

Одной из основных причин развития воспаления в ЖТ на фоне ожирения считается гипоксия. Гипоксические условия в ЖТ развиваются из-за гипертрофии жировых клеток и нарушения ангиогенеза, что приводит к недостаточному снабжению клеток кислородом (Jiang et al., 2011; Michailidou et al., 2012; Hodson et al., 2013). Действительно, у человека с ожирением диаметр адипоцитов может достигать 150-200 мкм, тогда как диффузионное расстояние O_2 составляет всего 100–200 мкм (Ye et al., 2007). Кроме того, снижение O_2 в ЖТ при ожирении было показано с помощью гипоксических зондов (пимонидазол) (Rausch et al., 2008).

В ответ на гипоксию в клетках ЖТ активируется транскрипционный фактор, индуцируемый гипоксией, 1α (HIF-1α), который оказывает влияние на адипоциты и иммунные клетки (Hosogai et al., 2007). Активированный HIF-1α перемещается в ядро и способствует экспрессии многих генов, участвующих в ангиогенезе и воспалении (Trayhurn, 2013; Fiory et al., 2019). К таким генам относятся фактор роста эндотелия сосудов, инсулиноподобный фактор роста 2, трансформирующий фактор роста α и провоспалительные цитокины ИЛ-33 и ИЛ-18 (Fiory et al., 2019). В ответ на повышение секреции провоспалительных молекул под действием HIF-1α происходит инфильтрация ЖТ макрофагами и другими лимфоидными клетками (Cramer et al., 2003; Pasarica et al., 2009; O'Rourke et al., 2011). Роль HIF-1α в провоспалительных реакциях, приводящих к ИР, была показана в многочисленных исследованиях влияния нокаута HIF-1α на метаболизм ЖТ (Jiang et al., 2011; Lee et al., 2011; Sun et al., 2013; Lee et al., 2014). В данных исследованиях продемонстрировано, что специфический нокаут HIF-1α в адипоцитах снижает

воспаление ЖТ, восстанавливает толерантность к глюкозе и чувствительность к инсулину, но не вызывает снижение массы тела. Это подчеркивает важность HIF-1α в общем воспалительном ответе ЖТ, что согласуется с гипотезой о том, что внутриклеточная гипоксия адипоцитов, вызванная ожирением, приводит к воспалению и последующей ИР (Lee et al., 2021).

Окислительный стресс является еще одной характеристикой ЖТ при ожирении (Houstis et al., 2006; Matsuzawa-Nagata et al., 2008; Michurina et al., 2020). Основным проявлением окислительного стресса является продукция активных форм кислорода (АФК) (пероксидов и свободных радикалов кислорода), которые повреждают все компоненты клеток, в том числе белки, липиды и ДНК (Onyango, 2018). Причинами развития окислительного стресса могут быть гипоксия и дисфункция митохондрий. Нарушение функционирования митохондрий вызывает воспаление, окислительный стресс, гибель клеток и метаболическую дисфункцию (Hock et al., 2009; Kim et al., 2016). Ряд исследований на моделях ожирения показали, что митохондриальная дисфункция тесно связана с воспалением, ИР и СД2Т (Silva et al., 2000; Morino, 2005; Woo et al., 2019).

В норме низкие концентрации АФК стимулируют инсулиновый сигналинг через ингибирование фосфотирозин фосфатазы PTP1B (Zhuang et al., 2003; Iwakami et al., 2011). С другой стороны, повышение уровня АФК приводит к развитию ИР (Ikemura et al., 2010; Hurrle et al., 2017; Fazakerley et al., 2018). Показано, что АФК стимулируют стресс-активируемые киназы, ингибирующие инсулиновый сигнальный каскад (Evans et al., 2003; Iwakami et al., 2011; Rains et al., 2011). Также, АФК оказывают значительное влияние на метаболические пути, например, ингибируют гликолиз (Morgan et al., 2002; Beisswenger et al., 2003). Также известно, что пероксид водорода снижает экспрессию белков липидного метаболизма CPT1, ацил-КоА оксидазы, PPARα и PPAR-γ (Paumen et al., 1997; Li et al., 2012; Chan et al., 2013). При повышенном уровне АФК образуются окисленные липопротеины, которые активируют провоспалительный сигналинг, стимулируют транскрипционный фактор NFκB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of

activated B cells) и ингибирующие инсулиновый сигналинг сериновые киназы: IKK (киназа IκB), JNK, p38 MAPK, протеинкиназу C (Ogihara et al., 2004; Soumyarani et al., 2012; Onyango, 2017; Lara-Guzmán et al., 2018; Poznyak et al., 2020). Подавление окислительного стресса в моделях ожирения приводит к нормализации веса и чувствительности к инсулину (Kwak et al., 2017).

Гипертрофия и метаболическая перегрузка адипоцитов сопровождается стрессом не только митохондрий, но и ЭПР. ЭПР участвует в синтезе, сворачивании и контроле качества многих белков. При избыточном потреблении питательных веществ в клетках усиливается синтез белка, а значит, увеличивается нагрузка на системы сворачивания белковых молекул в ЭПР. Если нагрузка на ЭПР слишком высока, и гомеостаз органеллы нарушен, в клетке накапливаются неправильно свернутые белки и активируется реакция на несвернутые белки (unfolded protein response (UPR)), направленная на восстановление гомеостаза ЭПР (Ron et al., 2007; Ajoolabady et al., 2023).

UPR осуществляется через активацию трех сигнальных путей через белки PERK (protein kinase r-like ER kinase), IRE1 (inositol-requiring enzyme 1) и ATF6 (activating transcription factor 6) (Ajoolabady et al., 2023). Активация UPR направлена на восстанавливление гомеостаза ЭПР за счет активации экспрессии шаперонов и регуляции процессов аутофагии и деградации дефектных белков (Yang et al., 2015b). При чрезмерном или постоянном стрессе ЭПР и неспособности UPR восстановить гомеостаз происходит гиперактивация UPR, что приводит к индукции воспаления и апоптоза (Sano et al., 2013). Воспаление при стрессе ЭПР развивается в ответ на повышения концентрации Ca^{2+} и АФК в цитозоле, что активирует транскрипционный фактор NFκB. Более того, экспрессия NFκB стимулируется при чрезмерной активации сигнального пути PERK-eIF2α (eukaryotic translation initiation factor 2A). Гиперактивация сигналинга через IRE1 запускает процесс регулируемой IRE1-зависимой деградации, который также способствует воспалению и апоптозу (Schmitz et al., 2018).

Стресс ЭПР был показан в ЖТ при ожирении как у грызунов, так и у людей (Ozcan et al., 2006; Gregor et al., 2009; Boden et al., 2011; Kawasaki et al., 2012). Основной механизм индукции стресса ЭПР в адипоцитах заключается в изменении метаболизма и окислительно-восстановительного статуса клеток при избытке свободных ЖК (Jiao et al., 2011; Kawasaki et al., 2012). Роль стресса ЭПР в индукции воспаления и ИР в ЖТ подтверждается исследованиями подавления сигнальных путей UPR. Показано, что PERK участвует в активации IKKβ, приводящей к ИР. Важно отметить, что снижение стресса ЭПР при введении химических шаперонов связано со снижением уровня воспаления и улучшением чувствительности к инсулину (Ozcan et al., 2006; Jiao et al., 2011; Kawasaki et al., 2012). Описанные исследования свидетельствуют о том, что повышение свободных ЖК при ожирении индуцирует несколько взаимосвязанных патологических процессов в адипоцитах. Они повышают продукцию АФК, индуцируют стресс ЭПР и активируют синтез провоспалительных цитокинов, что приводит к дисфункции ЖТ и развитию ИР.

Еще одним фактором активации воспаления при ожирении является изменение кишечной микробиоты. Состав микробиоты кишечника зависит от диеты, поэтому при преобладании жиров и простых углеводов в пище происходит адаптация микробиоты. При ожирении наблюдается изменение количественного соотношения микроорганизмов различных таксономических групп, что ассоциировано с развитием метаболических заболеваний. При ожирении наблюдается повышение количества бактерий типа Firmicutes и снижение количества бактерий типа Bacteroidetes, а также преобладают бактерии, участвующие в деградации полисахаридов (Davis, 2016; Duranti et al., 2017). Измененная кишечная микробиота при ожирении является источником бактериальных ЛПС в плазме. Поскольку адипоциты экспрессируют паттерн-распознающие рецепторы TLR2 и TLR4, ЛПС могут напрямую активировать провоспалительные сигнальные пути в этих клетках (Hersoug et al., 2018).

Все описанные выше механизмы возникновения воспаления ЖТ в ответ на метаболический стресс, вызванный ожирением сводятся к активации провоспалительных сигнальных путей, основными участниками которых являются киназы JNK и IKK и транскрипционные факторы AP-1 (активирующий белок 1) и NFκB. Большое количество экспериментальных работ подтверждают, что JNK и IKK являются ключевыми медиаторами развития ИР при ожирении. Обнаружено, что активность JNK повышена в ЖТ, печени и мышцах при ожирении и ИР (Feng et al., 2020). Нокаут IKK и JNK, напротив, ассоциирован с нормализацией веса и инсулиновой чувствительности в модели ожирения (Hirosumi et al., 2002; Arkan et al., 2005; Chiang et al., 2009). Адипоцит-специфическое подавление экспрессии JNK не приводит к снижению веса при высокожировой диете, но препятствует эктопическому отложению липидов, что говорит о важной роли JNK в развитии системной ИР (Sabio et al., 2008). Снижение инфильтрации ЖТ макрофагами при делеции JNK также подтвердило ключевую роль JNK в регуляции воспаления ЖТ при ожирении и его связь с ИР (Han et al., 2013).

В настоящее время рассматриваются два механизма индукции ИР при активации киназ IKK и JNK. Во-первых, они активируют транскрипционные факторы AP-1 и NFκB, которые стимулируют экспрессию провоспалительных генов (ФНОα, ИЛ-1β, ИЛ-6 и ИЛ-8). Провоспалительные цитокины поддерживают хроническое воспаление в ЖТ и играют важную роль в нарушении толерантности к глюкозе (Houstis et al., 2006; Kammoun et al., 2014; Trop-Steinberg et al., 2017). Во-вторых, IKK и JNK способны осуществлять ингибирующее серин/треониновое фосфорилирование каркасного белка инсулинового сигнального каскада IRS. Сериновое фосфорилирование IRS нарушает его связывание с рецептором инсулина и нижестоящими участниками сигнального каскада, а также служит сигналом для убиквитинилирования и протеасомной деградации всех изоформ IRS (Zick, 2004).

Таким образом, патологические процессы, активируемые в ЖТ при ожирении, создают условия для активации воспаления. Воспалительный процесс выражается

как в инфильтрации ЖТ иммунными клетками, так и в активации специфических сигнальных каскадов. Продолжительная метаболическая перегрузка ЖТ приводит к тому, что воспаление переходит в латентное самоподдерживающееся состояние, которое приводит к метаболическим нарушениям. Именно поэтому для борьбы с метаболическими заболеваниями и ИР необходимо искать подходы к разрушению положительных обратных связей в индукции воспаления при ожирении.

Провоспалительные цитокины являются важнейшими факторами, поддерживающими воспаление при ожирении за счет аутокринного, паракринного и системного воздействия на клетки ЖТ и за ее пределами (Patel et al., 2013). Воздействие на экспрессию цитокинов и на активируемые ими сигнальные каскады является перспективным подходом к предотвращению метаболических нарушений при ожирении. Далее рассмотрены механизмы влияния провоспалительных факторов на энергетический метаболизм.

1.6. Роль провоспалительных цитокинов в регуляции энергетического метаболизма

При ожирении наблюдается повышение уровня многих провоспалительных цитокинов в крови. Увеличивается концентрация ФНОα, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-5, ИЛ-10, ИЛ-12, ИЛ-13, интерферона γ, галектина 3 и др. (Schmidt et al., 2015; Ellulu et al., 2017; Ivashkiv, 2018; Rohm et al., 2022). При этом, повышение концентрации многих провоспалительных факторов коррелирует с риском развития СД2Т (Hotamisligil et al., 1994; Spranger et al., 2003; Ivashkiv, 2018).

Действие ФНОα, ИЛ-6 и ИЛ-1β на развитие ИР изучено наиболее подробно. Показано, что ФНОα снижает чувствительность к инсулину (Hotamisligil et al., 1994), усиливает липолиз в адипоцитах и нарушает адипогенез (Stephens et al., 1997; Guilherme et al., 2008). ИЛ-1β тоже способствует ИР (Vandanmagsar et al., 2011; Wen et al., 2011). В ЖТ ИЛ-1β нарушает передачу сигнала в инсулиновом каскаде (Lagathu et al., 2006; Stienstra et al., 2010). Кроме того, ИЛ-1β нарушает секрецию инсулина в поджелудочной железе, способствуя развитию СД2Т (Eguchi et al., 2012). Данные о действии ИЛ-6 на ИР противоречивы. В некоторых исследованиях

сообщается об индукции ИР под действием ИЛ-6. В то время как в других предполагается, что ИЛ-6 оказывает инсулиноподобное действие и усиливает чувствительность к инсулину (Carey et al., 2006; Franckhauser et al., 2008).

Механизмы регуляции метаболизма адипоцитов под действием провоспалительных цитокинов наиболее подробно описаны для ФНОα. В адипоцитах ФНОα вызывает ИР (Uysal et al., 1998; Sethi et al., 2000), активацию липолиза (Zhang et al., 2002a) и нарушение адипогенеза (Xu et al., 1999; Cawthorn et al., 2007). ФНОα действует через рецепторы 1 и 2 типа и рекрутирует сигнальный комплекс рецептора ФНОα I (TNF-RSCI) (Liu et al., 1998; Cawthorn et al., 2008). Сигналинг через TNF-RSCI приводит к активации MAPK (IKKβ, JNK, Erk и p38), осуществляющих ингибиторное серин-треониновые фосфорилирование IRS. Кроме того, ФНОα может нарушать передачу сигнала от инсулинового рецептора и подавлять вход глюкозы в адипоцитах через высвобождение Ca^{2+} из ЭПР. Показано, что ФНОα активирует экспрессию рецепторов инозитолтрифосфата, что приводит к повышению концентрации Ca^{2+} и активации Ca^{2+}/кальмодулин-зависимой протеинкиназы II, ингибирующей инсулиновый сигнальный каскад (Guney et al., 2021).

Кроме влияния на инсулиновую чувствительность ФНОα осуществляет метаболическое репрограммирование клеток за счет влияния на транскрипционные факторы. Под действием ФНОα в адипоцитах активируются факторы транскрипции NFκB, AP-1, ATF2, CEBPα, энхансер фактора 2 миоцитов, белок, связывающий элементы ответа цАМФ (CREB) и подавляется экспрессия PPAR и LXR (Guilherme et al., 2008). В результате, ФНОα снижает экспрессию целого ряда белков метаболизма адипоцитов, включая GLUT4, HSL, ацил-КоА-синтазу длинноцепочечных ЖК и другие ферменты липолиза и липогенеза.

В связи с тем, что хроническое латентное воспаление при ожирении вызывает значительные изменения в метаболизме белой ЖТ, не удивительно, что оно затрагивает бурую и бежевую ЖТ и их термогенную функцию. Во-первых, провоспалительные стимулы могут нарушать чувствительность бурых адипоцитов

к инсулину. Поглощение глюкозы необходимо для термогенеза, поскольку глюкоза выступает в качестве источника энергии, восполняет промежуточные продукты ЦТК и ЖК для термогенеза (Villarroya et al., 2018). Показано, что инсулин-индуцированное поглощение глюкозы нарушено в бурой ЖТ при ожирении (Pénicaud et al., 1987; Orava et al., 2011; Orava et al., 2013). Механизмы развития ИР бурых адипоцитов под действием ФНОα сходны с механизмами в белых жировых клетках и включают серин/треониновое фосфорилирование IRS, образование церамидов, активацию протеинфосфатазы-2, инактивацию Akt (Lorenzo et al., 2008; Nieto-Vazquez et al., 2008). ФНОα также изменяет некоторые неинсулинзависимые механизмы захвата глюкозы. Например, он нарушает поглощение глюкозы, опосредованное активацией GLUT1 в бурых адипоцитах (Díaz-Delfín et al., 2012). Провоспалительные стимулы влияют на чувствительность не только к инсулину, но и к другим важным метаболическим регуляторам. Известно, что при ожирении развивается резистентность адипоцитов к катехоламинам. Нарушение передачи сигнала от β3-адренорецепторов может возникать вследствие гиперактивации фосфодиэстеразы PDE3B, катализирующей деградацию цАМФ. Показано, что активация рецептора ФНОα в адипоцитах вызывает резистентность к катехоламинам через фосфорилирование PDE3B стресс-активируемой киназой IKKε (Mowers et al., 2013). ФНОα также снижает экспрессию β3-адренорецепторов за счет деградации их транскрипционных активаторов (Valentine et al., 2022). Вероятно, вследствие снижения чувствительности к катехоламинам активация воспаления оказывает негативный эффект на дифференцировку бежевых адипоцитов. В дополнение к метаболическим эффектам, провоспалительные цитокины влияют и на термогенную активность. Показано, что ФНОα и другие провоспалительные факторы подавляет экспрессию UCP1 в ЖТ худых мышей (Goto et al., 2016; Sakamoto et al., 2016; Nøhr et al., 2017; Sánchez-Infantes et al., 2017; Okla et al., 2018). В итоге, хроническое воспаление при ожирении нарушает термогенную функцию ЖТ и снижает ее способность к утилизации избыточных энергетических субстратов, что дополнительно способствует накоплению липидов.

Таким образом, провоспалительный цитокин ФНОα, секретируемый в ЖТ при ожирении, нарушает адипогенную дифференцировку, чувствительность адипоцитов к гормонам, снижает утилизацию глюкозы в процессе липогенеза и термогенеза и стимулирует липолиз. Кроме того, продолжительная стимуляция ФНОα приводит к гибели адипоцитов, привлечению макрофагов и дополнительной активации воспаления. Индукция описанных патологических процессов нарушает запасающую и термогенную функции ЖТ, что увеличивает уровень глюкозы и свободных ЖК в крови, индуцируя эктопическое отложение липидов в периферических тканях и резистентность к инсулину в других инсулин-зависимых тканях и органах. Другие провоспалительные цитокины действуют на метаболизм и ИР сходным с ФНОα образом. Именно поэтому в последние десятилетия было проведено много клинических исследований эффективности подавления воспаления для борьбы с гипергликемией и СД2Т.

1.7. Клиническое использование противовоспалительной терапии СД2Т

Первые клинические данные о положительном эффекте противовоспалительной терапии сахарного диабета были получены с использованием салицилата натрия (Ebstein W., 1876), который оказывает антидиабетический эффект посредством ингибирования пути NFκB (Faghihimani et al., 2013; Goldfine et al., 2013). Проведенные клинические исследования дополняют доказательства роли хронического воспаления при СД2Т.

В дальнейшем были проведены клинические исследования применения более специфичных противовоспалительных препаратов для коррекции гипергликемии: блокирующие антитела, специфичные к ФНОα (этанерцепт, инфликсимаб) и ИЛ-1β (анакинра, канакинумаб). Исследования блокаторов ФНОα показали улучшение гликемии у лиц с ожирением, а также снижение частоты развития СД2Т у пациентов с аутоиммунными заболеваниями (Gonzalez-Gay et al., 2006; Solomon et al., 2011; Antohe et al., 2012; Timper et al., 2013). С другой стороны, недавнее исследование эффективности ингибирования ФНОα при СД2Т не показало снижение гликемии (Ruscitti et al., 2019).

Наиболее оптимистичные результаты наблюдаются в исследованиях ингибирования воспаления при СД2Т с использованием блокаторов сигналинга ИЛ-1. Снижение активности ИЛ-1β за счет нейтрализующих антител показало возможность улучшать секреторную функцию β-клеток, снижать гликемию и уровень гликирования белков при СД2Т, а также предотвращать развитие диабета при ожирении (Asseldonk van et al., 2011; Cavelti-Weder et al., 2012; Rissanen et al., 2012; Poppel van et al., 2014; Everett et al., 2018; Ruscitti et al., 2019). Важнейшим результатом клинических исследований с использванием блокатора ИЛ-1β (канакинумаба) является снижение развития сердечно-сосудистых осложнений при СД2Т (Ridker et al., 2017). С другой стороны, при длительном блокировании ИЛ-1β у пациентов с СД2Т эффект препарата на гликемию ослабевал (Everett et al., 2018). Хотя исследование канакинумаба продемонстрировало общую безопасность длительного ингибирования ИЛ-1β, у пациентов с тяжелыми инфекциями антагонизм ИЛ-1β был связан с более высокой частотой летальных инфекций, что требует осторожности при применении у пациентов из группы риска.

Таким образом, современные стратегии противовоспалительной терапии СД2Т, направленные на ингибирование действия провоспалительных цитокинов, показали недостаточную эффективность и существенные ограничения в сравнении с другими препаратами. Возможно, низкая эффективность противовоспалительной терапии связана с тем, что провоспалительные цитокины действуют преимущественно на тканевом уровне, и блокирующие антитела не проникают в ЖТ в достаточной степени, чтобы полностью их связывать (Velikova et al., 2021). Дальнейшие исследования специфического действия медиаторов воспаления в ЖТ необходимы для выявления новых мишеней подавления воспаления при ожирении.

Один из новых экспериментальных подходов к терапии ИР и СД2Т относится к использованию противовоспалительных инсулин-сенситизирующих медиаторов (Satapati et al., 2017; Lee et al., 2021; Son et al., 2021). В нашем исследовании мы рассматриваем механизмы действия противовоспалительного цитокина ИЛ-4,

который является регулятором метаболизма инсулин-зависимых тканей и может быть перспективной мишенью для разработки терапии ИР и СД2Т в будущем.

1.8. Роль противовоспалительного цитокина интерлейкина-4 в регуляции энергетического метаболизма

ИЛ-4 представляет собой противовоспалительный цитокин Th2-типа, занимающий центральную роль в антигельминтном иммунном ответе, патогенезе аллергических реакций, разрешении острого воспаления и заживлении ран. ИЛ-4 влияет на функцию различных иммунных клеток, включая макрофаги (пролиферация и поляризация), Т-клетки (экспансия, дифференцировка, продукция цитокинов) и В-клетки (переключение класса изотипов антител). Продукцию ИЛ-4 в основном осуществляют Т-хелперы 2 типа и эозинофилы, а также базофилы, тучные клетки и NKT-клетки (Moqbel et al., 1995; Moro et al., 2010; Neill et al., 2010; Saenz et al., 2010; Junttila, 2018).

ИЛ-4 передает сигналы через специфические трансмембранные рецепторы типа I или типа II. Рецептор типа I состоит из связывающей α-субъединицы массой 140 кДа (IL-4Rα) и γ-цепи рецептора ИЛ-2 (γc) (Nelms et al., 1999). Рецептор типа II образуется при образовании комплекса IL-4Rα с цепью IL-13Rα1 рецептора ИЛ-13 (IL-13Rα1) (Zhang et al., 2002b; Junttila et al., 2008; Gandhi et al., 2014; Richter et al., 2017). В негемопоэтических клетках экспрессия IL-13Rα1 преобладает над γc. ИЛ-4 активирует внутри клеток связывание киназ JAK (Janus-киназы) с субъединицами рецепторов: JAK3 с γc, JAK1 с IL-4Rα или Tyk2, JAK2 с IL-13Rα1. Киназы JAK фосфорилируют остатки тирозина в IL-4Rα. Фосфорилированные остатки тирозина во внутриклеточных доменах IL-4Rα служат сайтами связывания для SH2-доменов внутриклеточных сигнальных молекул (Nelms et al., 1999) STAT6 и IRS, которые, в результате, тоже подвергаются фосфорилированию (Heller et al., 2008). После фосфорилирования молекулы STAT6 димеризуются и перемещаются в ядро, где они связываются со специфическими последовательностями ДНК. Молекулы IRS, также как и при активации инсулинового рецептора (раздел 1.2), активируют сигнальные пути PI3K, Akt и mTOR (Gadani et al., 2012), что позволяет

предположить взаимную регуляцию между сигнальными каскадами инсулина и ИЛ-4.

Начало изучения ИЛ-4 в контексте влияния на метаболизм было положено с открытием ассоциации однонуклеотидных замен в генах ИЛ-4 и его рецептора с СД2Т и уровнем липопротеидов высокой плотности в крови (Chang et al., 2012b). Кроме того, во многих исследованиях in vivo было показано влияние ИЛ-4 на системный углеводный и липидный метаболизм. ИЛ-4 повышает чувствительность к инсулину и толерантность к глюкозе при низко- и высокожировой диетах, способствует снижению накопления липидов в ЖТ, а также снижает концентрацию инсулина, холестерина и ТАГ в крови в модели ожирения (Ricardo-Gonzalez et al., 2010; Wu et al., 2011; Chang et al., 2012a; Lee et al., 2017b).

Описанные эффекты ИЛ-4 на системный энергетический гомеостаз осуществляются за счет влияния цитокина на метаболизм инсулинзависимых тканей и органов. Во-первых, показано, что ИЛ-4 переключает метаболизм печени с окисления ЖК на окисление глюкозы через регуляцию транскрипционных факторов STAT6 и PPARα в гепатоцитах (Ricardo-Gonzalez et al., 2010). Помимо этого, ИЛ-4 может оказывать влияние на миогенез в скелетных мышцах и способен повышать чувствительность к инсулину и активность поглощения глюкозы в миобластах (Chang et al., 2019).

Механизмы действие ИЛ-4 на метаболизм ЖТ вначале рассматривались с позиции изменения ее воспалительного статуса и инфильтрации антивоспалительными иммунными клетками. ИЛ-4 является важнейшим активатором М2-макрофагов, которые способны снижать уровень воспаления в ЖТ за счет секреции антивоспалительных факторов, включающих ИЛ-10, антагонист рецептора ИЛ-1, полиамины и экзосомы с регуляторными РНК (Phu et al., 2022). Более того, М2-макрофаги способствуют продукции катехоламинов и активации липолиза, β-окисления ЖК и диссипации полученной энергии в процессе термогенеза в адипоцитах, что предотвращает гипертрофию и избыточное накопление ТАГ (Nguyen et al., 2011; Xie et al., 2022).

В более поздних работах было обнаружено, что ИЛ-4 может влиять на метаболизм ЖТ, воздействуя непосредственно на адипоциты и их предшественники. Во-первых, ИЛ-4 активирует экспрессию инсулин-сенситизирующих адипокинов, таких как GDF15 (фактор роста и дифференцировки 15) и FGF21 (фактор роста фибробластов 21) (Lee et al., 2017b). С другой стороны, ИЛ-4 может влиять на метаболизм адипоцитов. В жировых клетках ИЛ-4 увеличивает продукцию цАМФ, который затем повышает ПКА-зависимое фосфорилирование HSL и перилипина, что приводит к активации липолиза (Tsao et al., 2014; Shiau et al., 2019). В преадипоцитах ИЛ-4 снижает способность к адипогенезу по STAT6-зависимому механизму, а также может влиять на экспрессию мастер-регулятора адипогенеза PPARγ (Wu et al., 2011; Tsao et al., 2014). Таким образом, ИЛ-4 может приводить к уменьшению накопления липидов в жировой ткани за счет подавления дифференцировки новых адипоцитов и активации расщепления уже существующих ЛК в ходе липолиза. Парадоксально, но описанные эффекты на жировую ткань зачастую связаны с ИР, так как липолиз и нарушение образования адипоцитов приводят к эктопическому отложению липидов. Предположительно, высвобождающиеся под действием ИЛ-4 ЖК могут использоваться для получения энергии, затрачиваемой затем в процессе термогенеза либо локомоторной активности (Ricardo-Gonzalez et al., 2010; Qiu et al., 2014; Choi et al., 2020). Действительно, существуют работы, демонстрирующие, что ИЛ-4 играет важную роль в индукции образования бежевой ЖТ. Кроме того, до конца не изучено, осуществляется этот эффект за счет влияния на преадипоциты или за счет трансдифференцировки белых адипоцитов (Qiu et al., 2014; Lizcano et al., 2017; Lin et al., 2020). С другой стороны, существуют работы, подвергающие сомнению активацию термогенеза под действием Th2-цитокинов (Fischer et al., 2017).

Не смотря на большое количество работ, роль и механизмы действия ИЛ-4 на энергетический метаболизм жировых клеток изучен недостаточно. Чтобы предположить возможные механизмы, мы проанализировали литературу о влиянии ИЛ-4 на метаболизм иммунных клеток (Stark et al., 2019; Lin et al., 2021). Например, В-клетки, стимулированные ИЛ-4, претерпевают значительные метаболические

изменения. ИЛ-4 вызывает увеличение потребления глюкозы для синтеза нуклеотидов, а также повышает скорость окислительного фосфорилирования и метаболизма глутамина. Механизмы влияния ИЛ-4 на метаболизм В-клеток включают активацию поли-АДФ-рибозополимеразы 14 и STAT6, которые повышают экспрессию GLUT1 и ферментов ЦТК. Дифференцировка Th2-лимфоцитов при стимуляции ИЛ-4 сопровождается сходными метаболическими изменениями: происходит активация гликолиза и окислительного фосфорилирования за счет активации mTORC2 и ГТФазы RhoA. Помимо метаболизма глюкозы, также было обнаружено, что ИЛ-4 увеличивает поглощение ЖК Th2 клетками и их окисление вследствие увеличения экспрессии CPT1α. Регуляция липидного метаболизма осуществляется через mTORC1 и PPARγ (O'Neill et al., 2016; Ip et al., 2017). Таким образом, в иммунных клетках ИЛ-4 активирует катаболические процессы, способствующие утилизации глюкозы и ЖК. Мы предполагаем, что ИЛ-4 может регулировать окислительный метаболизм адипоцитов так же, как и в иммунных клетках, но, возможно, через другие сигнальные механизмы. Исследование метаболического действия ИЛ-4 в жировых клетках позволит расширить понимание взаимосвязей метаболизма и иммунитета, что имеет высокую фундаментальную и практическую значимость.

Заключение

Противовоспалительный цитокин ИЛ-4 положительно влияет на системный метаболизм и инсулиновою чувствительности. Позитивное действие ИЛ-4 в контексте метаболических заболеваний, вызванных ожирением, сопряжено с влиянием как на иммунные клетки, так и на инсулин-зависимые клетки: адипоциты, миоциты и гепатоциты. Наиболее выраженное действие ИЛ-4 наблюдается в ЖТ, так как он способен изменять липидный метаболизм и регулировать дифференцировку адипоцитов. Мы предполагаем, что системные эффекты ИЛ-4, выраженные в предотвращении гипергликемии и дислипидемии, связаны с влиянием на метаболизм жировых клеток. Ранее мы показали, что ИЛ-4 активирует поглощение глюкозы, но дальнейшее включение глюкозы в

метаболические пути, механизмы регуляции и функциональная значимость этих процессов не изучены. Кроме того, действие ИЛ-4 на липолиз сходно с действием провоспалительных цитокинов, но не сопряжено с эктопическим отложением липидов. Вероятно, ИЛ-4 способствует расходованию не только глюкозы, но и ЖК в адипоцитах. Исследование влияния ИЛ-4 на углеводный и липидный метаболизм адипоцитов, на утилизацию высокоэнергетических субстратов позволит выявить новые перспективные направления для предотвращения нарушения метаболизма при ожирении.

ИЛ-4 является перспективным цитокином для разработки новых подходов к лечению осложнений ожирения. Трансляция ИЛ-4 в клинические исследования ограничивается плейотропностью действия этого цитокина: ИЛ-4 является активатором фиброза и аллергических реакций. Однако, разработка способов целевого воздействия ИЛ-4 на ЖТ может помочь избежать нежелательных явлений. Этого можно добиться с помощью инъекций в ЖТ, генной и клеточной терапии, а также с помощью частиц с контролируемым высвобождением цитокина (Patra et al., 2018; Deckers et al., 2023). Генная терапия на основе активации экспрессии цитокинов наиболее активно разрабатывается в иммунотерапии онкологических заболеваний, при которых экспрессия провоспалительных цитокинов способствует элиминированию клеток опухоли (Liu et al., 2010; Lan et al., 2021; Rossari et al., 2023). На основе данных исследований возможна разработка антивоспалительной генной терапии для коррекции метаболизма. В настоящее время существует большое разнообразие генетических векторов для доставки генов в определенные типы клеток. Наиболее перспективными являются аденовирусные, аденоассоциированные, бакуловирусные и лентивирусные конструкции. Кроме того, возможна комбинация генной и клеточной терапии, при которой модифицированные клетки или продукты их секреции трансплантируют в ЖТ.

В заключение, для разработки новых терапевтических подходов в области ожирения и метаболических заболеваний необходимо исследование механизмов действия инсулин-сенситизирующих факторов. Противовоспалительный цитокин

ИЛ-4 показал эффективность репрограммирования метаболизма и восстановления чувствительности к инсулину в моделях *in vivo*. Понимание тканеспецифических механизмов действия ИЛ-4 может быть использовано для разработки безопасной и эффективной противовоспалительной терапии метаболических заболеваний в будущем.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Для клеточных работ: культура клеток 3T3-L1 (CL-173, ATCC, США), среда ДМЕМ с концентрацией глюкозы 4,5 г/л (#G4510, Servicebio, Китай); эмбриональная бычья сыворотка (ФБС, #SV30160.03, Cytiva, США); сыворотка новорожденных телят (#LTNBCS-500, LT Biotech, Литва) антибактериальный агент PenStrep (#15240062, Gibco, США), раствор 0,25% трипсин-ЭДТА (#25200056, Gibco, США); раствор Версена (#P080п ПанЭко, Россия), культуральный пластик (Corning, США).

Индукторы адипогенной дифференцировки: изобутилметилксантин (#I5879, Sigma, США), дексаметазон (#D1756, Sigma, США), розиглитазон (#R2408, Sigma, США), инсулин (#I9278, Sigma, США). Рекомбинантный ИЛ-4 мыши (#P00196, Solarbio, Китай).

Для измерения поглощения и метаболизма глюкозы адипоцитами: дезокси-D-глюкоза, 2-[1.2-^{3}H(N)]- (#NET328A001MC, PerkinElmer, США), 2-дезоксиглюкоза (#D8375, Sigma, США), сцинтилляционная жидкость (#158726, Beckman Ready-Solv HP, США), ^{14}C-глюкоза (#ARC0122G; American Radiolabeled Chemicals, США).

Для работы с бактериальными культурами: бактотриптон (#211705, BD Biosciences, США), дрожжевой экстракт (#212750, BD Biosciences, США).

Для иммуноблоттинга: блокирующий агент ECL Prime blocking agent (#RPN418V, GE Healthcare, США), субстрат для пероксидазы Supersignal West Pico Chemiluminescent Substrate (#1856135, Thermo Scientific, США), обезжиренное сухое молоко (#A0830 0500, Applichem, Германия).

Первичные антитела для иммуноблоттинга и иммуноцитохимии: anti-pAkt-Thr-308 (#9275, Cell Signaling, США), anti-pAkt-Ser-473 (#4060, Cell Signaling, США), anti-pIRS1-Tyr-612 (#448164, Thermo Scientific, США), anti-STAT6 (#ab32520, Abcam, США) anti-Akt (#164148, Abcam, США), anti-vinculin (#18058, Abcam, США), anti-UCP1 (#A5857, Abclonal, Китай), anti-Opa1(ab42364, Abcam, США), anti-TOMM20

(#78547, Abcam, США), anti-Ces1d (#K110052P, Solarbio, Китай), anti-FSP27(#ABC300, Merck, Германия), anti-G0S2 (#A9970, Abclonal, Китай), Total OxPhos antibody cocktail (#ab110413, Abcam, США). Вторичные антитела: anti-rabbit IgG goat polyclonal IgG, конъюгат с пероксидазой Horseradish sp. (#7074, Cell Signaling, США), anti-mouse IgG donkey polyclonal IgG, конъюгат с пероксидазой Horseradish sp. (#115-035-146, Jackson Immuno Research, Великобритания).

Флуоресцентные зонды для прижизненной визуализации клеток: BODIPY 493/503 (#D3922, Thermo Scientific, США), ERthermAC (#SCT057, Sigma, США).

Методы

2.1. Культивирование клеток 3T3-L1

Клетки 3T3-L1 культивировали в стерильных условиях при 37°C и 5% CO_2 в инкубаторе (BINDER CB E3, Германия) в среде ДМЕМ с высоким содержанием глюкозы (4,5 г/л) с добавлением антибактериального агента PenStrep (смесь антибиотиков пенициллина (10000 ед/л) и стрептомицина (100 мкг/л)) и 10% сыворотки новорожденных телят. Для пересева клеток 3T3-L1 использовали промывку раствором Версена и инкубацию в 0,25% растворе трипсин-ЭДТА. Клетки пересаживали при достижении 70 – 90% конфлюэнтности в количестве 400 тысяч клеток на чашку диаметром 100 мм.

2.2. Адипоцитарная дифференцировка клеток 3T3-L1

Адипоцитарную дифференцировку осуществляли по протоколу (Zebisch et al., 2012), 2012. Клетки культивировали в стандартных условиях в 6-луночных планшетах до 100% конфлюэнтности. Затем среду заменяли на ДМЕМ с 10% ФБС на 48 ч. Адипогенез стимулировали в течение 4 дней с помощью изобутилметилксантина 0,5 мМ, дексаметазона 1 мкМ, розиглитазона 2 мкМ и инсулина 100 нМ. После завершения индукции адипогенной дифференцировки клетки культивировали в течение 4 дней в стационарной среде ДМЕМ с 10% ФБС. После завершения дифференцировки зрелые адипоциты стимулировали ИЛ-4 в течение 24 ч и проводили дальнейшие эксперименты.

2.3. Оценка накопления липидов и морфологии липидных капель

Клетки линии 3T3-L1 дифференцировали, как описано в пункте 2.2. После завершения протокола адипогенной дифференцировки проводили окрашивание клеток липофильным красителем BODIPY493/503 (1мкг/мл) в течение 30 мин в инкубаторе. После связывания флуоресцентного зонда клетки промывали раствором фосфатно-солевого буфера (ФСБ). Прижизненную визуализацию клеток проводили в среде ДМЕМ без фенолового красного на конфокальном микроскопе Leica Stellaris 5 (Leica, Германия) в камере с контролем CO_2 и температуры (Okolab, США). Флуоресценцию детектировали при длине волны возбуждения 490 нм и эмиссии при 500-600 нм. Размер и количество ЛК анализировали в программе FIJI (США) по протоколу Exner и соавторов (Exner et al., 2019).

2.4. Оценка активности термогенеза в адипоцитах

Зрелые адипоциты окрашивали термочувствительным красителем ERthermAC (250 нМ) в течение 30 мин в инкубаторе. После связывания флуоресцентного зонда клетки промывали раствором ФСБ. Прижизненную визуализацию клеток проводили в среде ДМЕМ без фенолового красного на конфокальном микроскопе Leica Stellaris 5 (Leica, Германия) при 5% CO2 и 25°C. Флуоресценцию детектировали при длине волны возбуждения 555 нм и эмиссии при 565-700 нм. Для определения активации термогенеза под воздействием стимуляции рассчитывали относительное изменение флуоресценции ERthermAC по формуле: A = (F0-Ft)/F0, где F0 - интенсивность флуоресценции в контрольных клетках, Ft - интенсивность флуоресценции после стимуляции клеток ИЛ-4 и ингибиторами липолиза в течение 1 ч.

2.5. Измерение поглощения глюкозы адипоцитами 3T3-L1

Адипоциты, стимулированные ИЛ-4 24 ч, инкубировали 10 мин в среде ДМЕМ без глюкозы, содержавшей 10 мкМ 2-дезоксиглюкозы и 0,2 мкКи/мл ^{3}H-2-дезоксиглюкозы. Клетки промывали холодным ФСБ, лизировали в RIPA-буфере (50 мМ Tris-HCl с pH 8,0, 150 мМ NaCl, 1% Triton X-100, 0,5% дезоксихолата

натрия, 0,1% додецилсульфата натрия) и анализировали методом жидкостной сцинтилляции на счетчике RackBeta (LKB Wallac, Швеция).

2.6. Анализ метаболизма ^{14}C-меченой глюкозы в адипоцитах

Для анализа включения глюкозы в липидный метаболизм использовали препарат глюкозы, меченной с помощью изотопа ^{14}C по всем атомам углерода. Для определения скорости липогенеза зрелые адипоциты культивировали в среде ДМЕМ, 4,5 г/л глюкозы, 10% ФБС, 0,2 мкКи/мл ^{14}C-глюкозы в присутствии или в отсутствие 100 нМ инсулина в течение 24 часов. После инкубации клетки промывали ФСБ, лизировали в RIPA буфере и экстрагировали липиды, как описано ниже в разделе 2.7. Для оценки скорости липолиза адипоциты предварительно инкубировали в среде ДМЕМ, 4,5 г/л глюкозы, 10% ФБС, 0,2 мкКи/мл ^{14}C-глюкозы, 100 нМ инсулина в течение 24 часов для включения атомов ^{14}C в ТАГ. После этого клетки промывали 3 раза ФСБ, инкубировали в среде ДМЕМ без сыворотки в течение 4 часов, после чего стимулировали липолиз в присутствии 100 мкМ изопротеренола в течение 24 часов. Для ингибирования липолиза использовали орлистат (панспецифический ингибитор липаз, 20 мкМ; #S1629, Selleckchem, США) и атглистатин (ингибитор ATGL, 10 мкМ; #S7364, Selleckchem, США). После инкубации собирали кондиционированную среду клеток для измерения секреции метаболитов и экстрагировали липиды из адипоцитов, как описано ниже в разделе 2.7.

2.7. Омыление и экстракция липидов

Экстракцию липидов из лизатов адипоцитов проводили по методу Фолча с модификациями (Reis et al., 2013). 100000 клеток собирали в 500 мкл RIPA-буфера, добавляли 500 мкл смеси хлороформ/метанол (2:1) и инкубировали при постоянном встряхивании в течение 10 мин. Образцы центрифугировали при 9000 g в течение 5 мин для образования двухфазного раствора. Нижнюю фазу (хлороформ), содержавшую липиды отбирали и высушивали в токе азота. Экстракцию липидов из лизатов проводили дважды.

Для измерения ^{14}C-метки в ЖК и глицерине из ТАГ проводили омыление липидной фракции. Омыление осуществляли, как описано ранее (Lund et al., 2018), с существенными изменениями. Липидные экстракты растворяли в 400 мкл 30% водного раствора КОН и нагревали при 70°С в течение 10 мин. После этого добавляли 400 мкл 95% этанола и смесь нагревали при 70°С в течение 2 ч при периодическом встряхивании. После охлаждения доводили pH раствора до значений 3-4 с помощью 6М HCl и экстрагировали жирные кислоты в 2 мл петролейного эфира. Водная фракция содержала преимущественно глицерин, полученный из ТАГ, тогда как органическая фаза содержала ЖК. Содержание ^{14}C в выделенных фракциях анализировали методом жидкостной сцинтилляции на счетчике RackBeta LKB.

2.8. Тонкослойная хроматография

Для анализа липидного состава лизатов клеток 3T3-L1 и проб после омыления липидов проводили тонкослойную хроматографию на пластинах с силикагелем (#5721, Merck, Германия). При хроматографии использовали следующие стандарты веществ: триолеат (#37086, Serva, Германия), олеиновая кислота, (#364525, Sigma-Aldrich, США) и глицерол (#G5516, Sigma-Aldrich, США). Образцы и стандарты, растворенные в хлороформе, наносили на пластины в объеме 10 мкл. Для анализа гидрофобных метаболитов использовали подвижную фазу, состоящую из петролейного эфира : диэтилового эфира : уксусной кислоты в соотношении 80:20:1 по объему. Для анализа содержания глицерина в качестве подвижной фазы использовали раствор хлороформ : метанол 3:1. Детекцию липидов на хроматограмме проводили путем инкубации в парах йода. Хроматограммы для детекции глицерина проявляли с помощью раствора $KMnO_4$ в 1М КОН. Определение значений коэффициента подвижности Rf проводили в программе Sorbfil TLC Videodensitometer (версия 2.3.0.2911, Россия). Для оценки включения ^{14}C в различные липиды носитель в областях детекции ТАГ, ЖК, эфиров холестерина собирали с помощью скребка, помещали в сцинтилляционную жидкость и анализировали радиоактивность.

2.9. Оценка активности гликолиза и митохондриального дыхания

Оценку активности гликолиза и окислительного фосфорилирования в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4 проводили на анализаторе метаболизма Seahorse XFe96 (Agilent, США) по модифицированному протоколу производителя XF Cell Mito Stress Test. После стимуляции адипоцитов ИЛ-4 среду заменяли на Seahorse XF ДМЕМ, pH 7.4 с добавлением 4,5 г/л глюкозы и 1мМ пирувата или с добавлением 4,5 г/л глюкозы и 100 мкМ комплекса пальмитата с БСА, полученного по методике (Svedberg et al., 1990). В клетках осуществляли измерение скорости потребления кислорода и скорости снижения внеклеточного pH в базальных условиях, после добавления разобщителя внутренней мембраны митохондрий (FCCP – карбонил цианидтрифторметоксифенилгидразон) и ингибиторов I и III комплексов дыхательной цепи ротенона и антимицина А. После анализа клетки фиксировали 4% раствором параформальдегида, окрашивали цитоплазму кристаллическим фиолетовым, проводили его экстракцию и нормировали полученные данные на количество экстрагированного красителя. Полученные зависимости поглощения кислорода от добавления ингибиторов позволили рассчитать базальное митохондриальное поглощение кислорода, максимальную скорость потребления кислорода при разобщении внутренней мембраны и вклад немитохондриального поглощения.

2.10. Анализ экспрессии белков и активности сигнальных каскадов методом иммуноблоттинга

После стимуляции ИЛ-4 клетки промывали холодным ФСБ и лизировали на льду в RIPA-буфере с добавлением ингибиторов протеаз (Complety Protease Inhibitor Cocktail, #04693116001, Roche, Швейцария) и фосфатаз (5 мМ Na_3VO_4, 10 мМ NaF, 20 мМ $Na_4P_2O_7$). Образцы гомогенизировали шприцем (BD Micro-fine Plus, 1 мл, 29G), центрифугировали 15 мин при 15000g, +4°C, супернатант отделяли от осадка и флотирующих липидов. В полученных образцах определяли концентрацию белка, используя Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Scientific, США), по протоколу производителя. Затем готовили пробы в буфере для образцов для

электрофореза по методу Лэммли, осуществляя нагревание при 56°С в течение 20 мин. Образцы наносили на 10% полиакриламидный гель с расчетом 20 мкг белка на дорожку и проводили электрофорез в денатурирующих условиях по Лэммли (Laemmli, 1970).

После электрофоретического разделения осуществляли влажный электроперенос белков на PVDF мембрану, активированную в 96% этаноле. Процесс проводили в буфере для переноса (25 мМ Трис, 192 мМ глицина, 0,04% ДСН, 20% этанол) в течение 18 часов при 100 мА на прибор. Затем мембрану блокировали 4 часа при комнатной температуре в 5% растворе блокирующего агента ECL Prime Blocking agent. После этого мембраны инкубировали с первичными антителами в разведении 1:1000 при +4°С в течение ночи. Мембрану отмывали в TBST 3 раза по 10 минут и инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена, в разведении 1:10000 в 1% растворе обезжиренного молока в течение 60 минут при комнатной температуре. Затем отмывали мембрану в TBST 3 раза по 10 минут и проводили хемилюминесцентное окрашивание мембраны субстратом Supersignal West Pico Chemiluminescent Substrate.

Хемилюминесценцию детектировали в гель-документирующей системе Infinity 3000 WL/LC (Vilber Lourmat, Франция). Для измерения тотального уровня анализированных белков мембраны стриппировали в 20 мМ Трис буфере с pH 8,0, содержащем 6 М гуанидин хлорид, 0,2% NP-40, 0,1% β-меркаптоэтанол, в течение 10 минут и инкубировали с антителами, специфичными к тотальным формам исследованных белков и к белку «домашнего хозяйства» винкулину. Результаты иммуноблоттинга анализировали в программе GelAnalyzer 2010a. Все использованные значения интенсивности хемилюминесценции находились в линейной области зависимости от времени экспозиции.

2.11. Получение лентивирусных векторов

Лентивирусные вектора получали для доставки в адипоциты генетических конструкций, кодирующих shРНК для подавления экспрессии STAT6, а также

конструкции для определения локализации транспортера глюкозы GLUT4 (#64049, Addgene, США).

Последовательности shРНК клонировали в вектор pGreenPuro (#SI505A-1, SBI, США) по протоколу производителя. Для этого олигонуклеотиды, кодирующие прямую и обратную последовательности shРНК-STAT6 (Таблица 1), отжигали и проводили лигирование с плазмидой pGreenPuro, подвергнутой рестрикции по сайтам BamHI и EcoRI. Аналогичным методом получали контрольную плазмиду, кодирующую несмысловую последовательность shРНК неспецифичную к мРНК мыши (shSCR). Полученные плазмиды секвенировали в центре коллективного пользования “ГЕНОМ” Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН.

Таблица 1. Олигонуклеотидные последовательности для клонирования shРНК.

Название олигонуклеотида	Последовательность 5’ - 3’
shSTAT6 прямой	GTTCAGATGCTTTCTGTTATTCAAGAGATAACAGAAAGCATCTGAACTTTTT
shSTAT6 обратный	AAAAAGTTCAGATGCTTTCTGTTATCTCTTGAATAACAGAAAGCATCTGAAC
shSCR прямой	ATCCGCGCGATAGTACGTATTTTCAAGAGAAATACGTACTATCGCGCGGATTTTT
shSCR обратный	AAAAATCCGCGCGATAGTACGTATTTCTCTTGAAAATACGTACTATCGCGCGGA

Для образования вирусных частиц проводили кальций-фосфатную трансфекцию HEK293T плазмидами-сборщиками pRSV-Rev, pMDLg/pRRE, pMD2.G и целевой плазмидой, кодирующей последовательность для доставки. Для этого раствор на основе 0,3M $CaCl_2$, содержавший 7 мкг/мл pMDLg/pRRE, 5 мкг/мл pRSV-Rev, 3 мкг/мл pMD2.G и 10 мкг/мл целевой плазмиды, тщательно перемешивали с буфером 2xHBS (40 мМ HEPES, 300 мМ NaCl, Na_2HPO_4 pH 7.1) и использовали для трансфекции клеток HEK293T при 70-80% конфлюэнтности культуры. Через 18 ч меняли среды на ДМЕМ, 10% ФБС. Через 24 часа кондиционированные среды собирали, центрифугировали при 1000g 10 мин, отбирали супернатант и замораживали вирусные стоки при -70°C.

2.12. Лентивирусная трансдукция адипоцитов 3T3-L1

Для трансдукции адипоцитов лентивирусные стоки смешивали со стандартной средой культивирования в соотношении 1:5 и добавляли 8 мкг/мл полибрена (#E1299, Selleckchem, США). Зрелые адипоциты 3T3-L1 культивировали в полученной смеси 6 ч, затем среды меняли на стационарную и через 48 часов проводили дальнейшие эксперименты.

2.13. Оценка транслокации транспортера глюкозы GLUT4 методом иммуноцитохимии

Мембранную транслокацию инсулинозависимого переносчика глюкозы GLUT4 анализировали с использованием генетической конструкции myc-GLUT4-mCherry. Анализ выполняли по методике, описанной ранее (Lim et al., 2015). Доставку конструкции myc-GLUT4-mCherry в адипоциты 3T3-L1 осуществляли с помощью лентивирусного вектора, что подробно описано в разделах 2.11 - 2.12. Адипоциты подвергали депривации от сыворотки в течение 4 ч, а затем стимулировали 100 нМ инсулина (положительный контроль) и 50 нг/мл ИЛ-4 в течение 1 ч. После этого клетки промывали и фиксировали в 4% растворе параформальдегида. Образцы инкубировали с 10% сывороткой козы в течение 1 ч при комнатной температуре, промывали ФСБ и инкубировали с антителами, специфичными к myc-тагу (разведение 1:100, #ab9106; Abcam, США) в течение 18 ч при +4°C. Образцы промывали и инкубировали с вторичными антителами, конъюгированными с Alexa Fluor488 (#A11034; Molecular Probes, США), в течение 1 ч при комнатной температуре. Полученные образцы визуализировали в среде Vectashield Antifade с 4,6-диамидино-2-фенилиндолом (DAPI; Vector Laboratories, США) методом конфокальной микроскопии на приборе Leica Stellaris 5 (Leica, Германия). По флуоресценции mCherry (возбуждение: 587 нм, эмиссия: 593 – 792 нм) продемонстрировали распределение всех молекул GLUT4. По флуоресценции Alexa488 (возбуждение: 499 нм, эмиссия: 504 – 587 нм) определяли количество GLUT4, экспонированного в плазматическую мембрану.

2.14. Статистический анализ

Для статистического анализа полученных результатов использовали программы Microsoft Excel и GraphPad Prism 8. Все эксперименты были проведены в 3 биологических повторах, каждый из которых включал 3 репликата. При использовании микроскопии для каждого образца анализировали микрофотографии с 5 полей зрения. Данные на рисунках представлены как среднее +/- стандартная ошибка среднего. Для расчета достоверности различий

использовали двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с апостериорным тестом Данна, принимая достоверными различия с уровнем значимости $p < 0.05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Влияние ИЛ-4 на поглощение и окисление глюкозы в адипоцитах

Цитокины, секретируемые иммунными клетками и модулирующие воспалительные реакции, оказывают значительное влияние на энергетический метаболизм животных. К таким факторам относится противовоспалительный цитокин ИЛ-4, который не только является центральным звеном в антигельминтных и аллергических реакциях, но и регулирует системный энергетический гомеостаз. Известно, что ИЛ-4 повышает толерантность к глюкозе, предотвращает развитие ожирения и снижает уровни глюкозы и ТАГ в крови. В предыдущих работах в нашей лаборатории было показано, что ИЛ-4 активирует поглощение глюкозы в жировых клетках, а также повышает экспрессию белков окислительного метаболизма митохондрий (Стафеев Ю.С.,). Соответственно, мы сформулировали гипотезу о том, что ИЛ-4 может усиливать утилизацию глюкозы в адипоцитах в ходе окислительных процессов. В настоящей работе мы подробно исследуем метаболизм глюкозы в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4, а также анализируем механизмы регуляции поглощения глюкозы.

Вначале, мы подтвердили результаты предыдущих исследований и показали, что ИЛ-4 активирует поглощение ^{3}H-2-дезоксиглюкозы в адипоцитах 3T3-L1 (Рис. 1 А), что является показателем активности транспорта глюкозы. Глюкоза в адипоцитах может поступать в различные метаболические пути, включающие окисление в ходе гликолиза и ЦТК в митохондриях.

Влияние ИЛ-4 на активность гликолиза и митохондриального окисления глюкозы в адипоцитах изучали на анализаторе метаболизма Seahorse XFe96. Показателем активности гликолиза служит скорость снижения pH среды культивирования при секреции продукта гликолиза лактата. Мы показали, что ИЛ-4 увеличивает активность гликолиза (Рис. 1 Б), так как он ускоряет снижение pH клеточной среды. Активность митохондрий определяли по скорости поглощения O_2 клетками, затем добавляли разобщитель внутренней мембраны митохондрий (FCCP) для определения максимальной активности ЭТЦ при разобщении внутренней

мембраны. В конце эксперимента добавляли ингибиторы I и III комплексов ЭТЦ для оценки вклада немитохондриального поглощения O_2 (Рис. 1 Г). По результатам анализа рассчитывали немитохондриальное, базальное и максимальное разобщенное поглощение кислорода по протоколу производителя XF Cell Mito Stress Test.

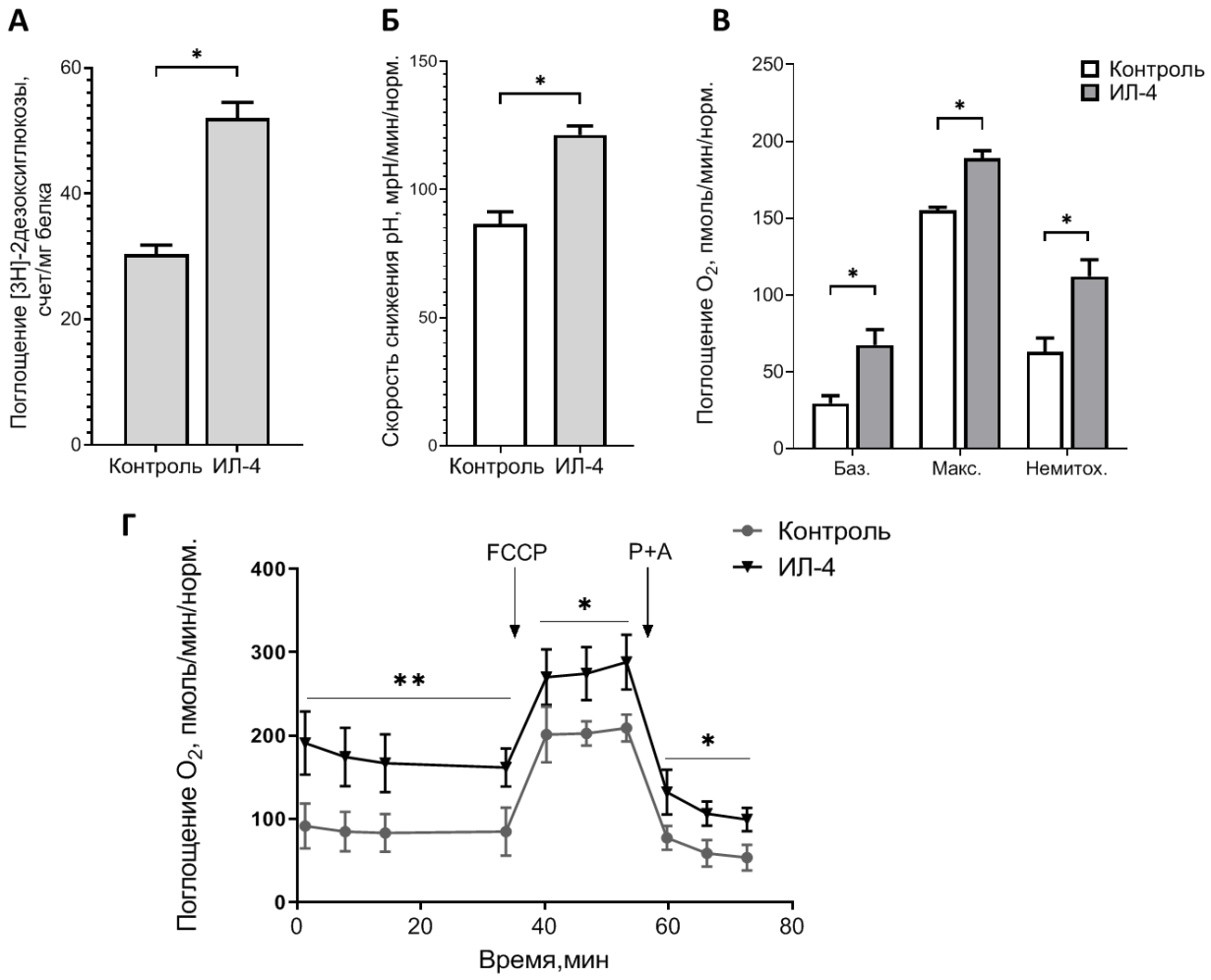

Рис. 1. Поглощение и окисление глюкозы в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4. А – оценка поглощения ^{3}H-2-дезоксиглюкозы методом жидкостной сцинтилляции; Б – определение активности гликолиза по скорости снижения pH кондиционированной среды; В – расчет активности базального (Баз.), максимального разобщенного (Макс.) и немитохондриального (Немитох.) поглощения O_2; Г – поглощение O_2 адипоцитами в ходе проведения анализа XF Cell Mito Stress Test; FCCP – карбонилцианидтрифторметоксифенил гидразон (разобщитель внутренней мембраны митохондрий), P+A – ротенон и антимицин А (ингибиторы комплексов I и III ЭТЦ); ** - $p<0,01$, * - $p<0,05$, n=5, ANOVA.

Обнаружено, что ИЛ-4 повышает базальное, максимальное разобщенное и немитохондриальное поглощение кислорода в адипоцитах (Рис. 1 В). Рост базального поглощения свидетельствует об активации митохондриального окисления глюкозы, что может быть связано с повышением потребности

адипоцитов в АТФ или с разобщением внутренней мембраны митохондрий. Увеличение максимального разобщенного поглощения кислорода отражает возможности клетки дополнительно стимулировать митохондриальную активность при увеличении потребности в АТФ. Мы предположили, что ИЛ-4 может обеспечивать активацию базальной и максимальной активности митохондрий за счет увеличения количества митохондрий, комплексов ЭТЦ или изменения митохондриальной динамики. Для этого мы оценивали экспрессию субъединиц комплексов I, II, IV ЭТЦ, АТФ-синтазы, а также белка транспортера наружной мембраны митохондрий TOMM20 и регулятора динамики митохондрий Opa1 (Рис. 2).

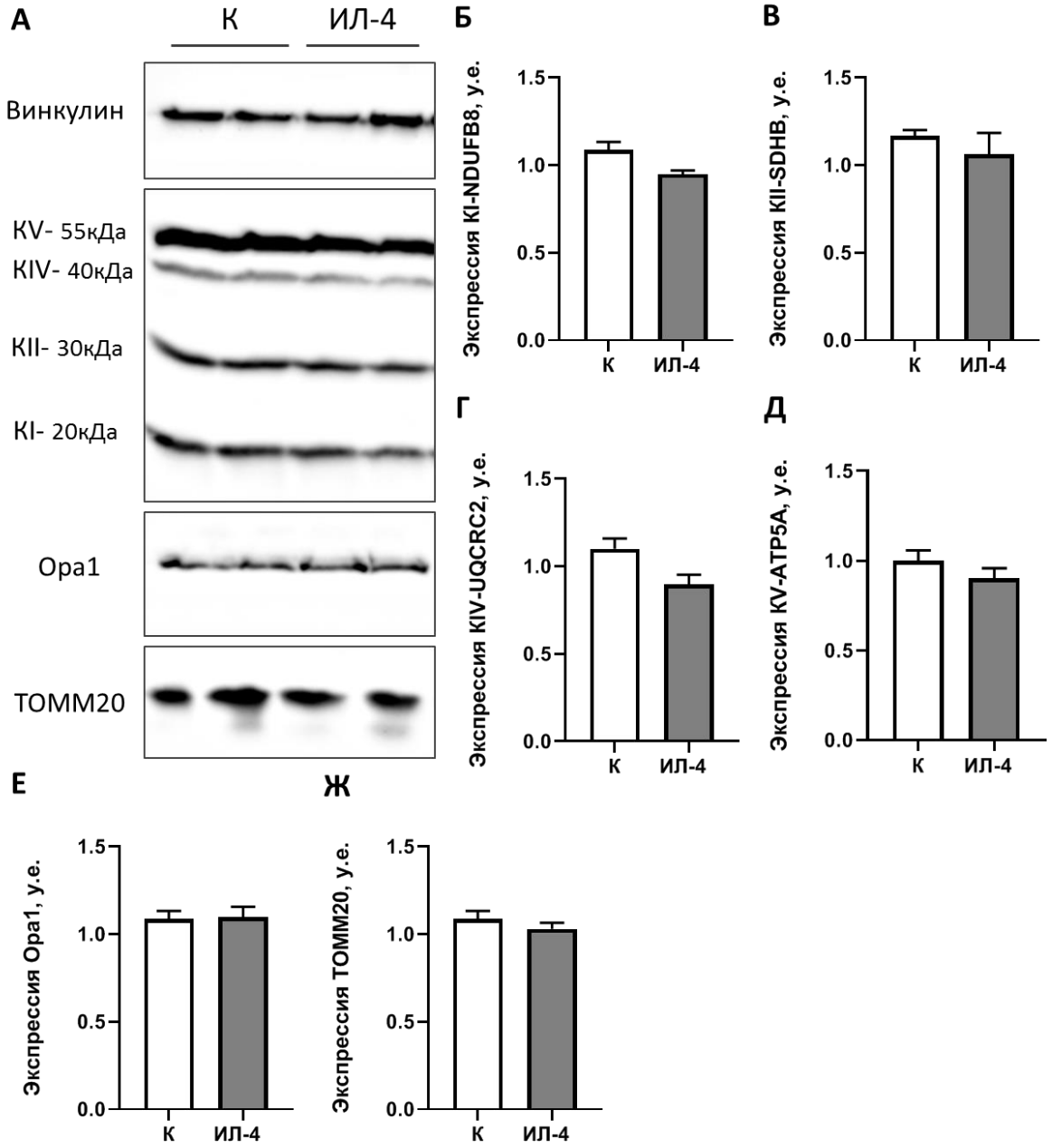

Рис. 2. Анализ экспрессии митохондриальных белков в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4. А – репрезентативный иммуноблоттинг; расчет относительной экспрессии белков ЭТЦ: Б – субъединицы NDUFB8 комплекса I, В – субъединицы SDHB комплекса II, Г – субъединицы UQCRC2 комплекса IV, Д – субъединицы ATP5A АТФ-синтазы; Е – расчет экспрессии белка Opa1 Ж – расчет экспрессии белка TOMM20; n=3.

Мы показали, что ИЛ-4 не оказывает влияние на экспрессию исследованных субъединиц комплексов ЭТЦ и АТФ-синтазы (Рис. 2 А – Д). Также ИЛ-4 не влияет

на экспрессию TOMM20, что является одним из показателей количества митохондрий в клетках. Экспрессия белка Opa1, регулирующего динамику митохондрий и форму крист, также не изменялась под действием ИЛ-4. Возможно, действие ИЛ-4 на окислительную активность митохондрий осуществляется не через транскрипционные, а посттрансляционные механизмы.

Таким образом, мы убедительно показали, что ИЛ-4 регулирует окислительный метаболизм глюкозы в жировых клетках. Далее мы предложили и исследовали потенциальные сигнальные механизмы действия ИЛ-4 на поглощение и окисление глюкозы в адипоцитах.

3.2. Оценка роли транскрипционного фактора STAT6 в регуляции поглощения глюкозы под действием ИЛ-4

Канонический механизм действия ИЛ-4 в различных типах клеток заключается в активации транскрипционного фактора STAT6. В предыдущих работах мы показали, что ИЛ-4 способен активировать фосфорилирование и транслокацию STAT6 в ядро адипоцитов (Стафеев Ю.С.,). В настоящей работе мы исследовали, осуществляется ли регуляция метаболизма глюкозы в адипоцитах по STAT6-зависимому механизму. С использованием shРНК мы получили адипоциты с подавленной экспрессией STAT6. По результатам иммуноблоттинга экспрессия STAT6 снижалась на 90% (Рис. 3 А). В качестве дополнительного контроля мы использовали несмысловую последовательность shРНК (shSCR). В адипоцитах с подавленной экспрессией STAT6 оценивали активацию поглощения глюкозы, гликолиза и митохондриального окисления (Рис. 3 Б - Д).

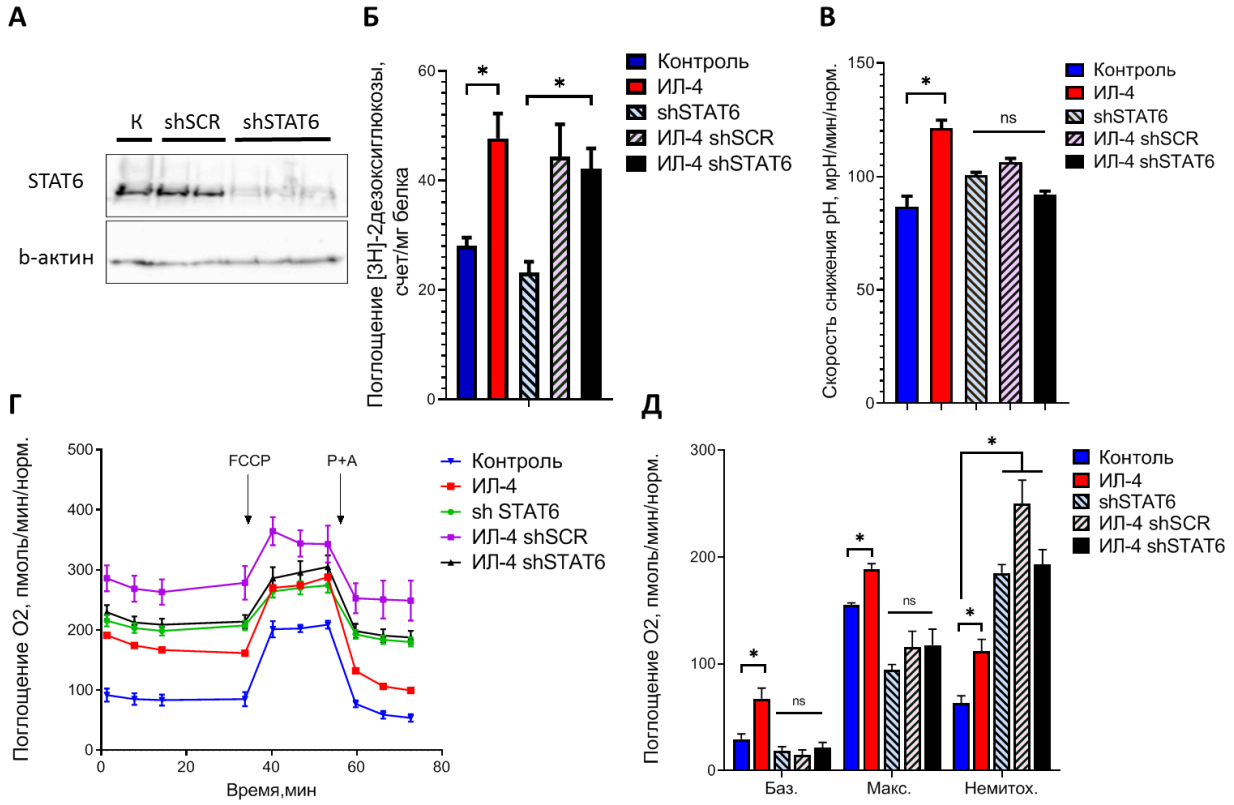

Рис. 3. Влияние ИЛ-4 на поглощение и окисление глюкозы в адипоцитах с подавленной экспрессией STAT6. А – оценка уровня экспрессии STAT6 в адипоцитах, экспрессирующих shРНК-STAT6 и несмысловую shРНК (shSCR); Б – оценка поглощения ^{3}H-2-дезоксиглюкозы; В – определение активности гликолиза по скорости снижения pH среды; Г – анализ активности митохондрий по поглощению O_2; Д – расчет базального (Баз.), максимального (Макс.) и немитохондриального (Немитох.) поглощения O_2; FCCP – карбонилцианид-п-трифторметоксифенилгидразон (разобщитель внутренней мембраны митохондрий), P+A – ротенон и антимицин А (ингибиторы комплексов I и III ЭТЦ); * - $p<0,05$, ns - $p>0,05$ ANOVA.

По результатам измерения поглощения неметаболизируемого аналога глюкозы мы обнаружили, что ИЛ-4 активирует его поглощение даже при сниженной экспрессии STAT6 (Рис. 3 Б). При этом, влияние ИЛ-4 на гликолиз и митохондриальную активность в отсутствие STAT6 снижалось (Рис. 3 В - Д), и стимуляция поглощения O_2 под действием ИЛ-4 сохранялась только на уровне тенденции ($p=0,01$). Стоит отметить, что в пробах с shSCR действие ИЛ-4 снижалось в сравнении с клетками,

немодифицированными shРНК (Рис. 3 В, Д). Кроме того, трансдукция лентивирусными конструкциями, кодирующими shРНК, значительно активировала немитохондриальное поглощение O_2 и снижала базальное и максимальное в сравнении с контрольными клетками (Рис. 3 Г, Д). Возможно, трансдукция адипоцитов с помощью лентивирусных конструкций с shРНК оказывает неспецифическое влияние на метаболизм адипоцитов, поэтому для исследования STAT6-зависимых механизмов регуляции окисления глюкозы необходима оптимизация метода ингибирования STAT6. Трансдукция shРНК не оказывала неспецифического влияния на поглощение глюкозы, поэтому мы сделали вывод, что ИЛ-4 активирует поглощение глюкозы по STAT6-независимому механизму.

3.3 Оценка регуляции инсулин-зависимых процессов под действием ИЛ-4

Как описано в разделе 1.7, ИЛ-4 может регулировать несколько сигнальных путей, включающих фосфорилирование каркасных белков-субстратов инсулинового рецептора IRS1 и IRS2. Фосфорилирование IRS1/2 по остаткам тирозина в адипоцитах является основным механизмом действия инсулина. Через активацию сигнального каскада IRS1-PI3K-Akt инсулин стимулирует транслокацию транспортера глюкозы GLUT4 и поступление глюкозы внутрь клетки. Мы предположили, что ИЛ-4 может активировать поглощение глюкозы через стимуляцию инсулинового сигнального каскада, так как ИЛ-4 и инсулин имеют общие сигнальные молекулы. Мы исследовали регуляцию фосфорилирования основных участников инсулинового сигнального каскада под действием ИЛ-4 методом иммуноблоттинга (Рис. 4). Активацию фосфорилирования рассчитывали как отношение количества фосфорилированной формы белка к количеству тотальной формы или белка домашнего хозяйства винкулина.

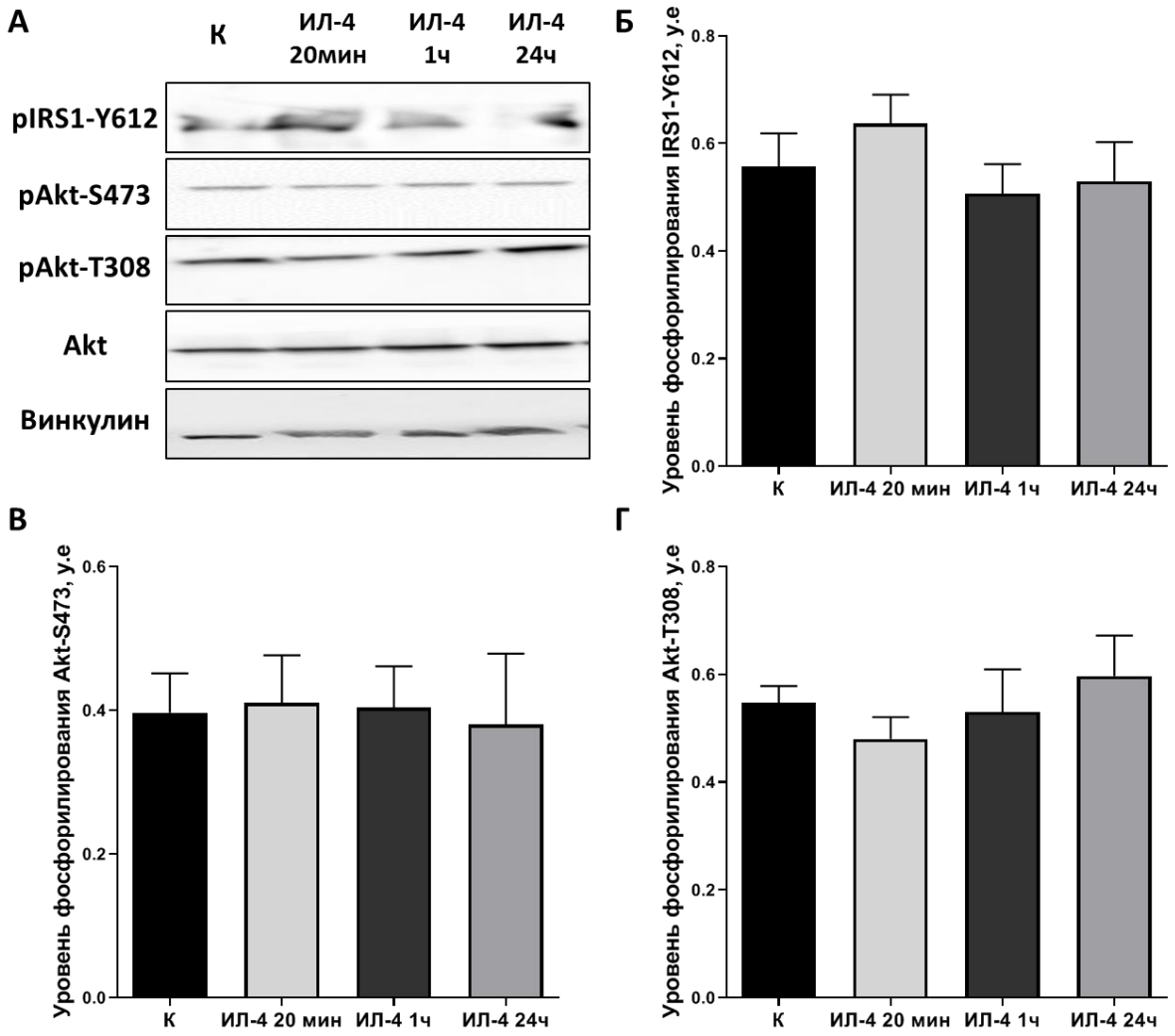

Рис. 4. Фосфорилирование и экспрессия белков IRS1 и Akt в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4. А – репрезентативные иммуноблоттинги; Б – расчет активации фосфорилирования IRS1 по остатку Y612; В – расчет активации фосфорилирования Akt по остатку S473; Г – расчет активации фосфорилирования Akt по остатку T308; n=3.

При анализе активирующего фосфорилирования белков IRS1 и Akt при стимуляции ИЛ-4 в течение 20 мин, 1 ч и 24 ч не обнаружено влияние ИЛ-4 на активность основных участников PI3K-сигнального каскада. Так как регуляция фосфорилирования исследованных аминокислотных остатков в белках IRS1 и Akt не является точным показателем активности инсулинового сигнального каскада, далее мы исследовали изменение в экспрессии и локализации нижестоящих участников этого процесса – транспортеров глюкозы.

Поглощение глюкозы в адипоцитах регулируется путем изменения экспрессии и клеточной локализации транспортеров глюкозы. GLUT1 и GLUT4 – наиболее распространенные транспортеры глюкозы в адипоцитах, поэтому мы предположили, что ИЛ-4 может регулировать их экспрессию и повышать поступление глюкозы. Экспрессию транспортеров определяли методом иммуноблоттинга (Рис. 5).

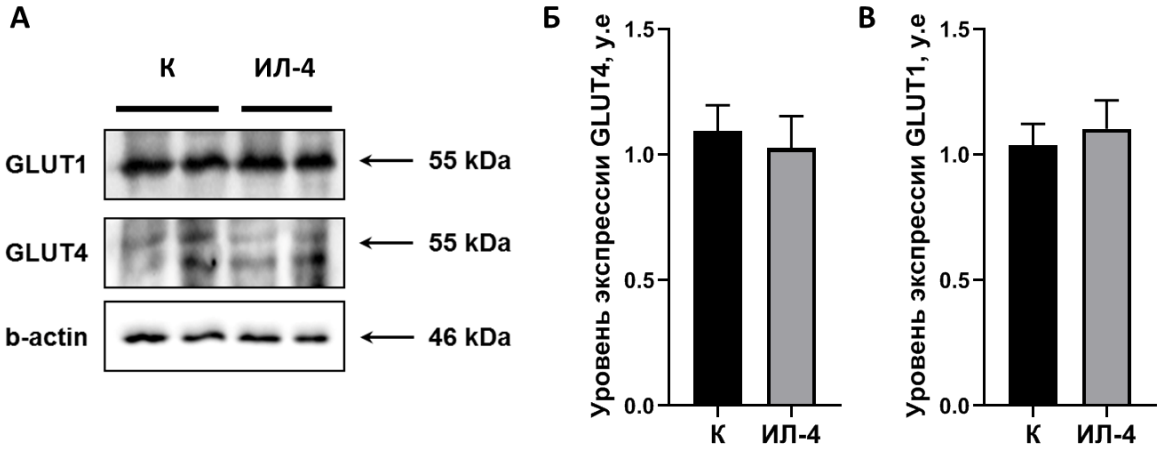

Рис. 5. Экспрессия транспортеров глюкозы GLUT1 и GLUT4. А – репрезентативные иммуноблоттинги, Б – денситометрия иммуноблоттингов для сравнения экспрессии GLUT1 и GLUT4; n=3.

Было показано, что ИЛ-4 не влияет на экспрессию GLUT1 и GLUT4 в адипоцитах. Активность транспорта через GLUT1 и GLUT4 зависит не только от общего количества транспортеров, но и от их локализации в плазматической мембране. GLUT1 в адипоцитах в основном находится на клеточной поверхности, в то время, как для транслокации GLUT4 в плазматическую мембрану необходима стимуляция транспорта внутриклеточных везикул. Влияние ИЛ-4 на локализацию GLUT4 оценивали с помощью генетической конструкции, кодирующей GLUT4, слитый с флуоресцентным белком mCherry и с myc-тагом в области внеклеточной петли белка. При детекции myc-тага с помощью антитела, меченного Alexa 488, в непермеабилизированных клетках, флуоресценция Alexa 488 может наблюдаться, только если myc-GLUT4-mCherry находится в плазматической мембране.

Эффективность методики подтвердили при анализе флуоресценции в контрольных адипоцитах и клетках, стимулированных инсулином (Рис. 6).

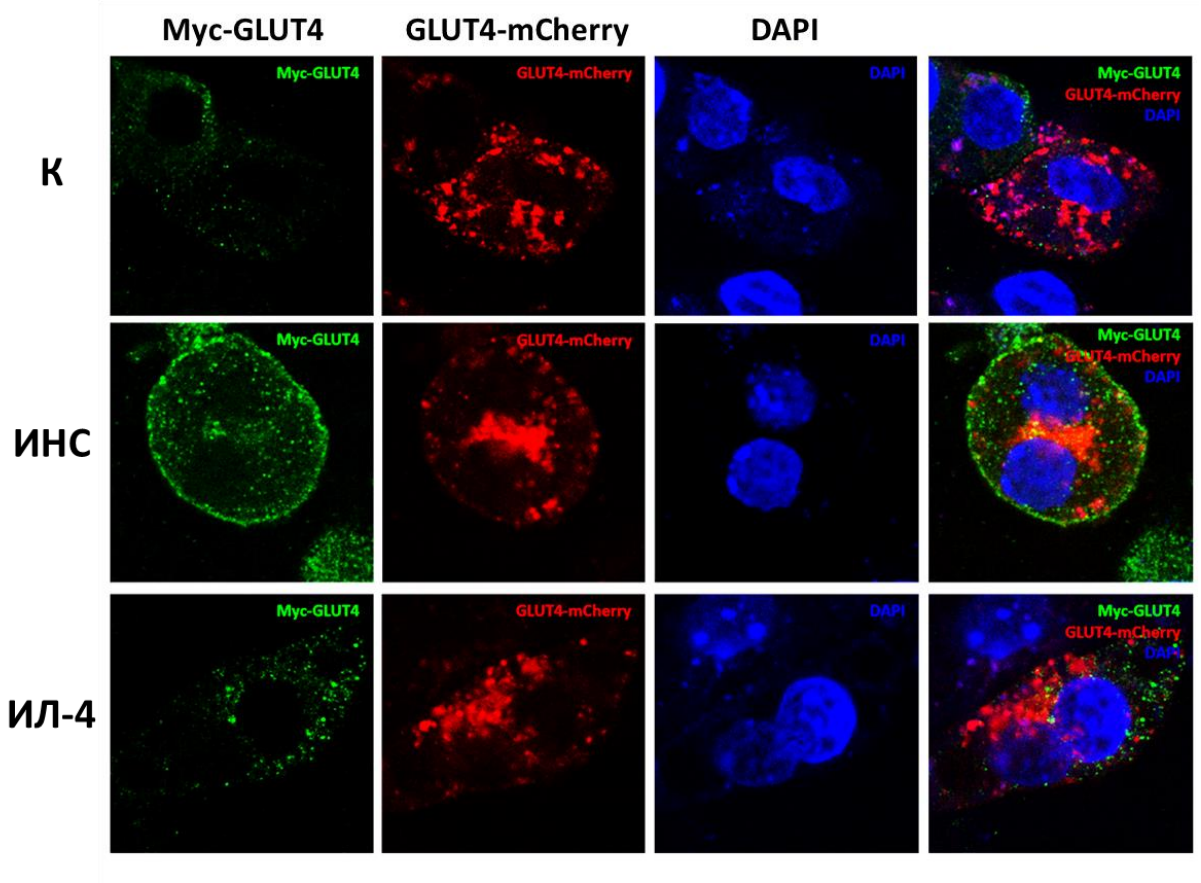

Рис. 6. Оценка транслокации GLUT4 методом конфокальной микроскопии с использованием конструкции myc-GLUT4-mCherry. DAPI – 4',6-диамидино-2-фенилиндол, ИНС – 100 нМ инсулина.

Ожидаемо, в контроле GLUT4 находился внутри клетки, детекция myc-тага была минимальная. Инсулин стимулировал транслокацию GLUT4 в плазматическую мембрану, поэтому флуоресценция в канале Alexa488 возрастала.

ИЛ-4 не увеличивал транспорт GLUT4 на поверхность адипоцитов, так как уровень флуоресценции Alexa 488 оставался на уровне контроля. Таким образом, ИЛ-4 не влияет на экспрессию транспортеров глюкозы GLUT1 и GLUT4 и на транслокацию GLUT4.

3.4. Оценка влияния ИЛ-4 на накопление липидов в адипоцитах

Активация поглощения глюкозы адипоцитами под действием ИЛ-4 может быть связана не только с катаболическими процессами, но также и с синтезом запасных липидов ТАГ. Активность липогенеза определяли по включению ^{14}C атомов из ^{14}C-меченой глюкозы в состав липидов (Рис. 7 А). Кроме того, для оценки накопления липидов мы визуализировали ЛК в культуре зрелых адипоцитов с помощью липофильного флуоресцентного зонда BODIPY493/503, определяли размер ЛК и количество связавшегося красителя (Рис. 7 Б – Г).

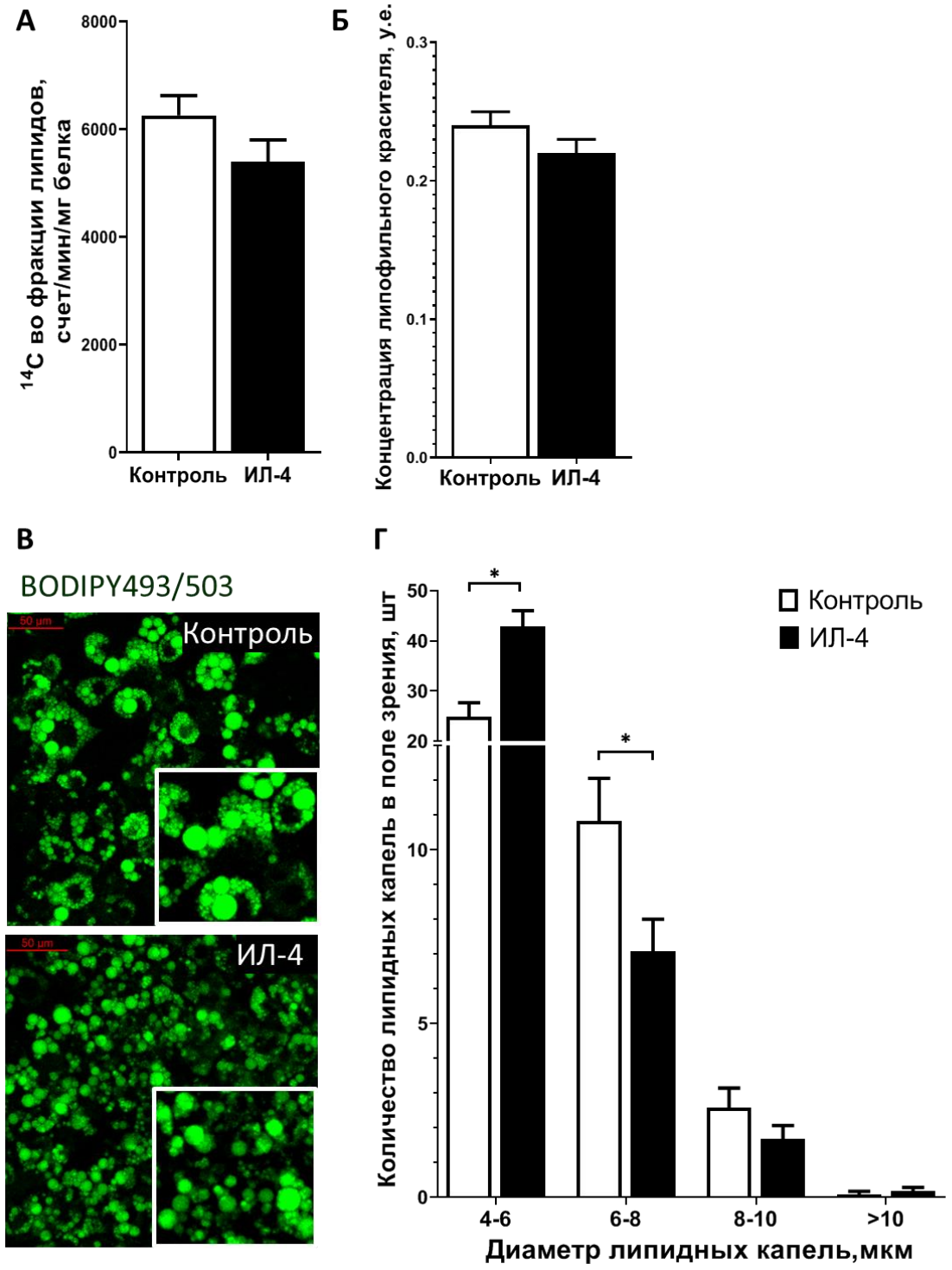

Рис. 7. Влияние ИЛ-4 на морфологию ЛК и липогенез в адипоцитах. А – оценка включения ^{14}С-метки в гидрофобные метаболиты; Б – количественная оценка связывания липофильного красителя в культуре адипоцитов; В – репрезентативные микрофотографии адипоцитов, окрашенных BODIPY493/503, размерный отрезок – 50 мкм; Г – распределение ЛК в адипоцитах по размеру; * - $p<0,05$, ANOVA.

ИЛ-4 не оказывает влияние на скорость синтеза липидов из ^{14}C-глюкозы (Рис. 7 А). Кроме того, общее количество накопленных липидов в адипоцитах (Рис. 7 Б) также не изменялось при стимуляции ИЛ-4. Полученные данные свидетельствуют об отсутствии действия ИЛ-4 на липогенез и включение глюкозы в синтез ТАГ. При анализе микрофотографий ЛК мы обратили внимание на то, что ИЛ-4 изменяет морфологию ЛК (Рис. 7 В), поэтому мы провели подсчет ЛК разного размера и построили соответствующее распределение (Рис. 7 Г). Мы показали, что ИЛ-4 стимулирует фрагментацию ЛК в жировых клетках. Описанный феномен наблюдается в адипоцитах при активации липолиза, так как фрагментация увеличивает площадь поверхности ЛК, доступную для липаз. Далее мы разрабатывали методику для оценки активности липолиза в адипоцитах.

3.5. Определение регуляции липогенеза и липолиза под действием ИЛ-4 методом радиоизотопного анализа

Для оценки липолиза и липогенеза мы использовали радиоизотопный анализ. Мы отработали метод оценки включения меченных ^{14}C-атомов в состав глицерола и ЖК в триглицеридах, что позволяет оценивать скорость как *de novo* синтеза ТАГ, так и процесс синтеза Г3Ф и реэтерификации ЖК. Для разделения глицерола и ЖК из ТАГ мы использовали метод щелочного гидролиза (омыления), эффективность которого контролировали с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ) (Рис. 8 А, Б). В качестве стандартов ТАГ и ЖК использовали триолеат и олеиновую кислоту, соответственно. Хроматографическая подвижность указанных веществ совпадает с данными литературы для используемой системы ТСХ.

Мы обнаружили, что в образцах липидов, экстрагированных из адипоцитов, до омыления (Рис. 8 А, ДО) преобладают ТАГ и вещества с высокой подвижностью (Rf= 0,93), которые по данным литературы являются эфирами холестерина (Stahl, 1969). В результате омыления ТАГ и экстракции гидрофобных продуктов реакции (Рис. 8 А, ПО) ТАГ гидролизуются до ЖК. При этом, эфиры холестерина слабо гидролизуются в данных условиях, что соответствует данным литературы (Hansen et al., 2015). Для подтверждения, что включение ^{14}C-атомов из ^{14}C-глюкозы

происходит только в ЖК и эфиры глицерина и ЖК, мы проанализировали количество ^{14}C в соответствующих полосах на хроматограмме (Рис. 8 В). Показано, что ^{14}C-атомы входят в состав ЖК, ТАГ, ДАГ и МАГ, но не эфиров холестерина. Таким образом, присутствие эфиров холестерина не влияет на результаты радиоизотопного анализа гидрофобной фракции после омыления.

Фракцию водорастворимых метаболитов после омыления также анализировали методом ТСХ с использованием в качестве подвижной фазы более полярных растворителей (Рис. 8 Б). Показали, что после омыления водорастворимая фракция содержит глицерол, а также примеси других веществ, которые могут включать полярные липиды (фосфолипиды, сфинголипиды).

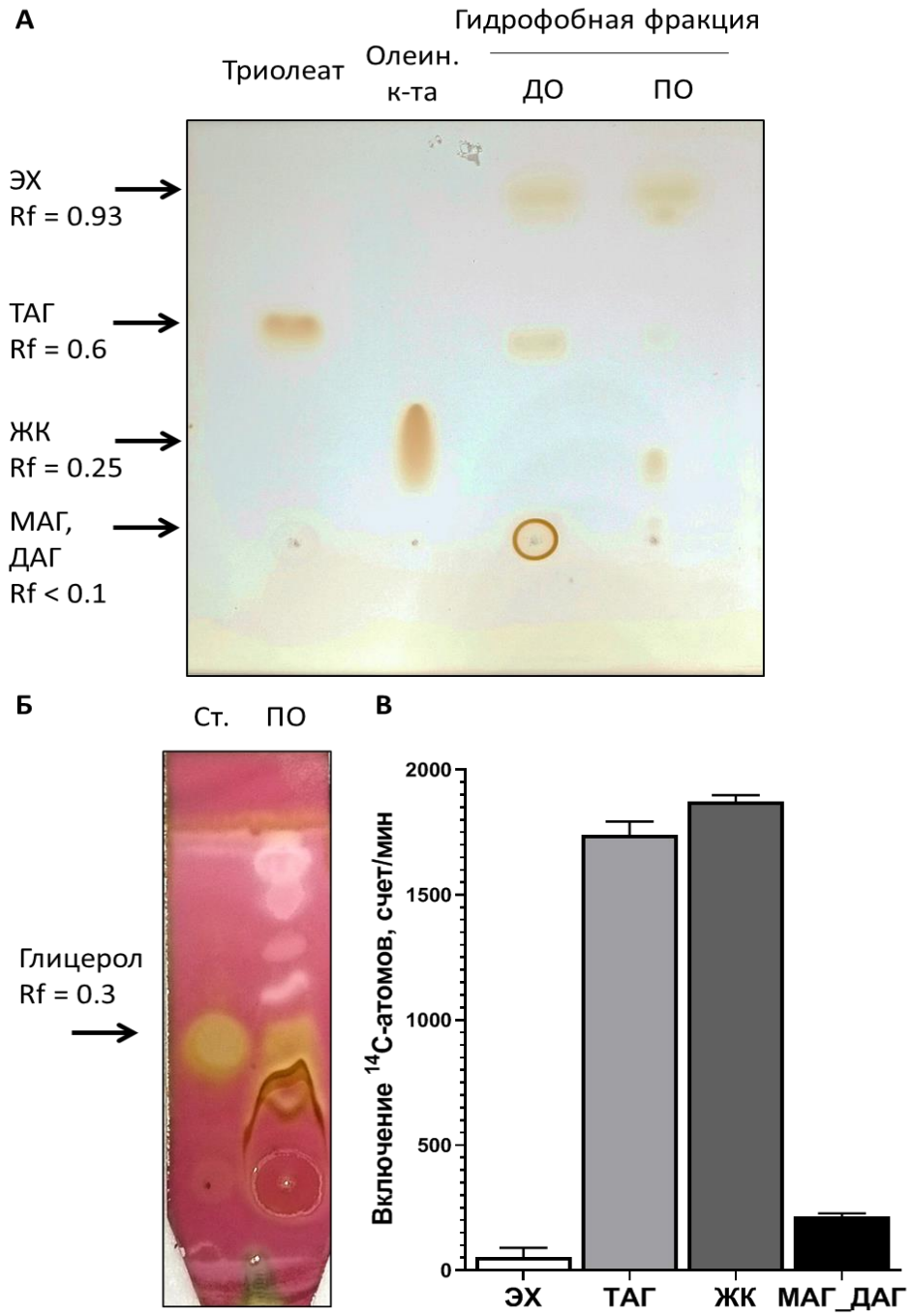

Рис. 8. Фракционирование и гидролиз клеточных лизатов для оценки липидного метаболизма. А – репрезентативная пластина ТСХ гидрофобных фракций метаболитов адипоцитов до омыления (ДО) и после омыления (ПО), элюент: петролейный эфир/диэтиловый эфир/уксусная кислота = 80/20/1, проявка в парах йода; Б – репрезентативная пластина ТСХ водной фазы после омыления (ПО), элюент: хлороформ/метанол=3/1, проявка в 0,5% $KMnO_4$ в 1М КОН. Ст. – стандарт глицерина; В – включение ^{14}C-атомов в липидные компоненты, разделенные с помощью ТСХ.

Таким образом, мы разработали метод для анализа ^{14}C-атомов в составе ЖК и остатка глицерина в ТАГ, что позволит оценить скорость синтеза этих компонентов ТАГ независимо. Разработанный метод мы применили для более подробного анализа липогенеза в адипоцитах (Рис. 9).

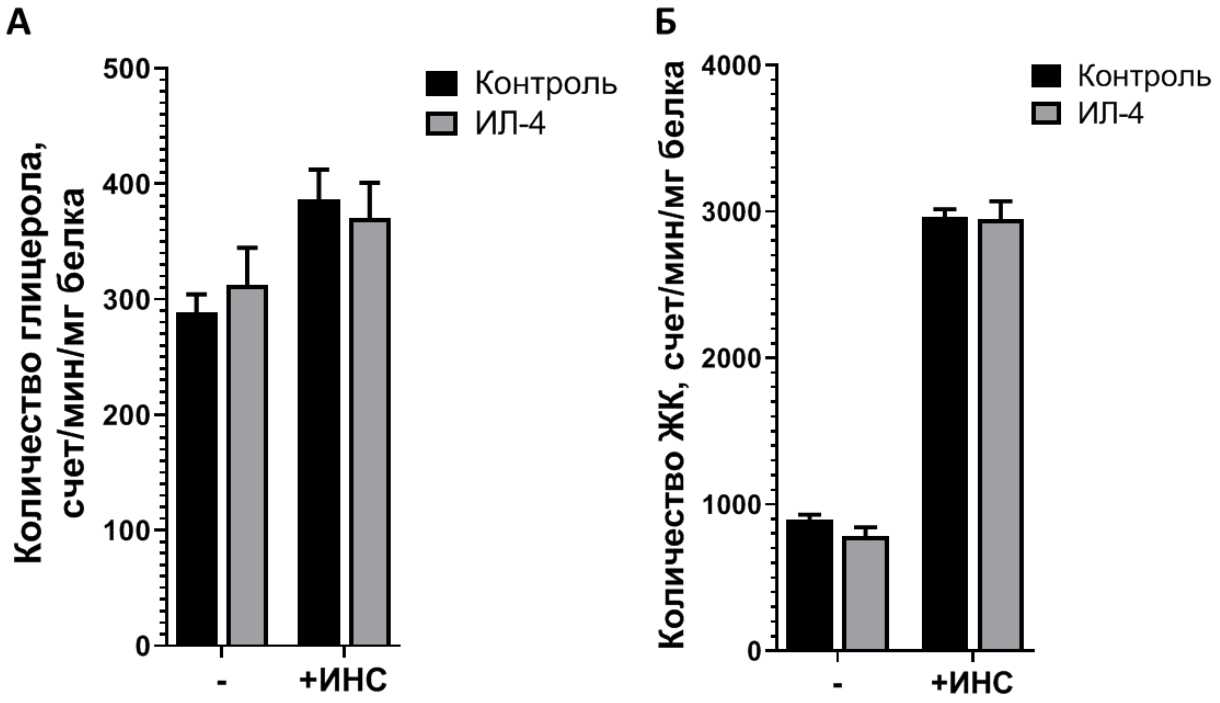

Рис. 9. Оценка липогенеза в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4 и инсулином (+ИНС). А – оценка включения ^{14}C-метки в состав глицерина в ТАГ; А – оценка включения ^{14}C-метки в состав ЖК в ТАГ; n=3.

Мы показали, что ИЛ-4 не влияет на скорость синтеза как ЖК, так и ГЗФ, что согласуется с данными об отсутствии влияния на липогенез (раздел 3.4). В дополнение, мы показали, что ИЛ-4 не влияет на способность инсулина активировать липогенез.

Метод оценки количества ^{14}C-метки в остатках ЖК и глицерола в ТАГ также позволил применить «пульс-чейз» подход для анализа активности липолиза. Адипоциты культивировали в среде с ^{14}C-глюкозой для включения ^{14}C атомов в ТАГ, затем клетки отмывали, переводили в среду с ^{12}C-глюкозой и после этого стимулировали ИЛ-4 и изопротеренолом (ИЗО) в присутствии ингибитора ATGL (атглистатина). После воздействия анализировали секрецию ^{14}C-меченых

метаболитов в среду культивирования клеток, а также количество ^{14}C в составе глицерина и ЖК из ТАГ (Рис. 10). Изопротеренол (агонист β-адренорецепторов) использовали в качестве положительного контроля, а также для оценки адренергической чувствительности адипоцитов.

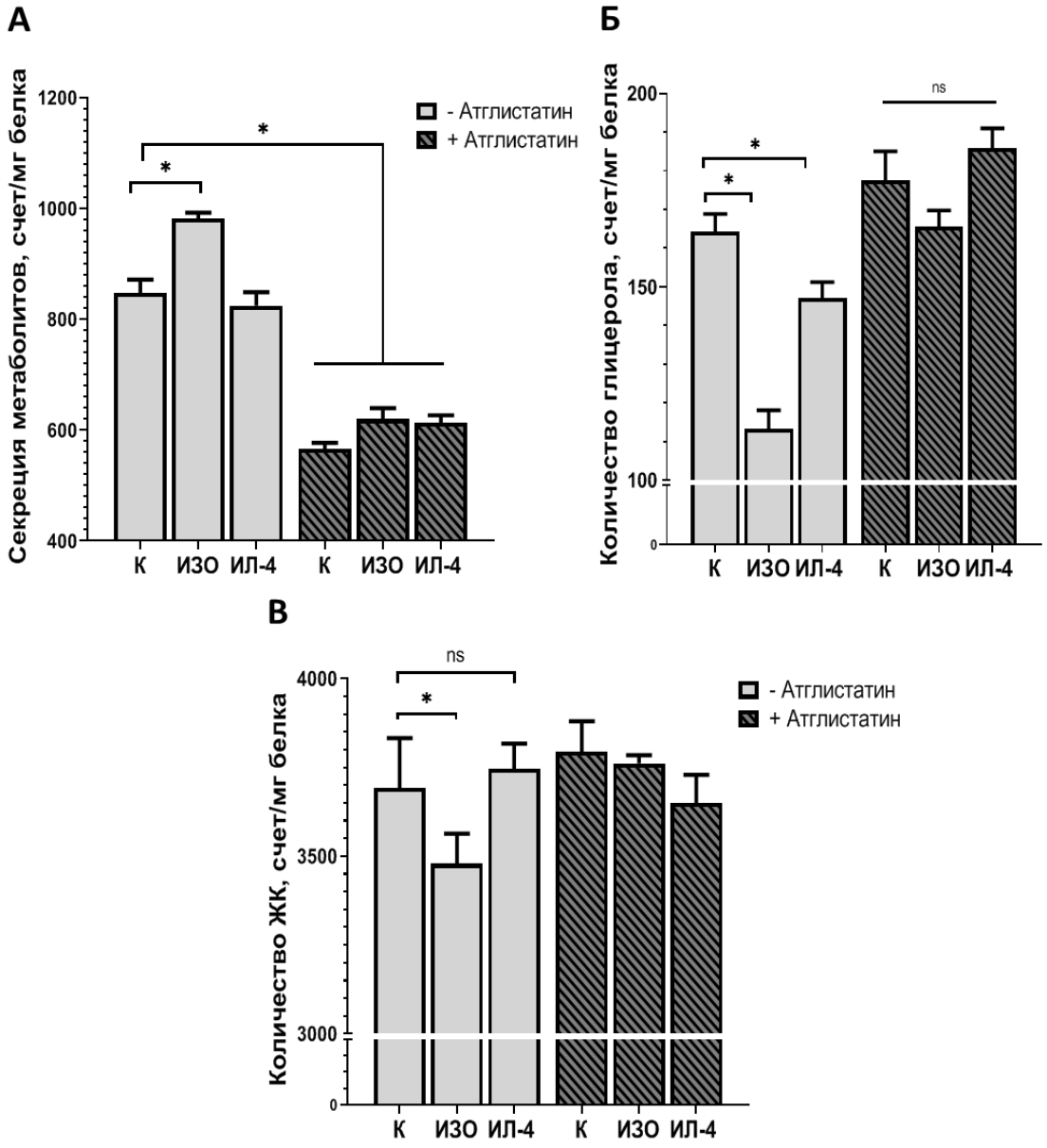

Рис. 10. Оценка активности липолиза в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4. Адипоциты культивировали в присутствии ^{14}C-глюкозы в течение 24 ч для образования ^{14}C-меченых ТАГ, переводили на среду с ^{12}C-глюкозой и оценивали гидролиз ^{14}C-ТАГ. А - секреция меченых метаболитов; Б, В - количество ^{14}C во фракциях глицерола и жирных кислот (ЖК) из ТАГ, соответственно; ИЗО - изопротеренол; * - $p<0,05$, $n=3$, ANOVA.

Известно, что активация β3-адренорецепторов в адипоцитах активирует липолиз. В клетках, стимулированных ИЗО, наблюдалась секреция ^{14}C-метаболитов и снижение количества метки в составе ЖК и глицерина в ТАГ (Рис. 10). Наблюдаемые эффекты связаны с гидролизом ^{14}C-меченых ТАГ и секрецией продуктов (глицерол и ЖК) в среду культивирования. Ингибирование первого скорость-лимитирующего фермента липолиза ATGL предотвращало активацию липолиза, как и ожидалось. Разработанный метод далее использовали для оценки влияния ИЛ-4 на липолиз.

Мы обнаружили, что ИЛ-4 снижает количество глицерола из ТАГ (Рис. 10 Б) и не влияет на количество ЖК и секрецию метаболитов (Рис. 10 А, В). Вероятно, ИЛ-4 активирует липолиз, что приводит к снижению ^{14}C-глицерина в ТАГ, но при этом высвободившаяся ЖК подвергается повторной этерификации и включению в состав ТАГ. Свободный глицерол, образовавшийся в ходе липолиза, не может быть использован для повторной этерификации и включения в ТАГ, так как в адипоцитах отсутствует глицеролкиназа.

При ингибировании ATGL ИЛ-4 терял способность к активации липолиза (Рис. 10 Б), поэтому мы сделали вывод, что ИЛ-4 специфически регулирует липолиз через активацию ATGL. Так как фрагментация ЛК взаимосвязана с регуляцией липолиза, мы предположили, что она также может активироваться ИЛ-4 по ATGL-зависимому механизму.

3.6. Анализ роли липолитических ферментов в фрагментации ЛК под действием ИЛ-4

Для проверки гипотезы о том, что фрагментация ЛК происходит за счет стимуляции липолиза, мы оценивали действие ИЛ-4 при ингибировании ATGL с помощью атглистатина (Рис. 11, 12).

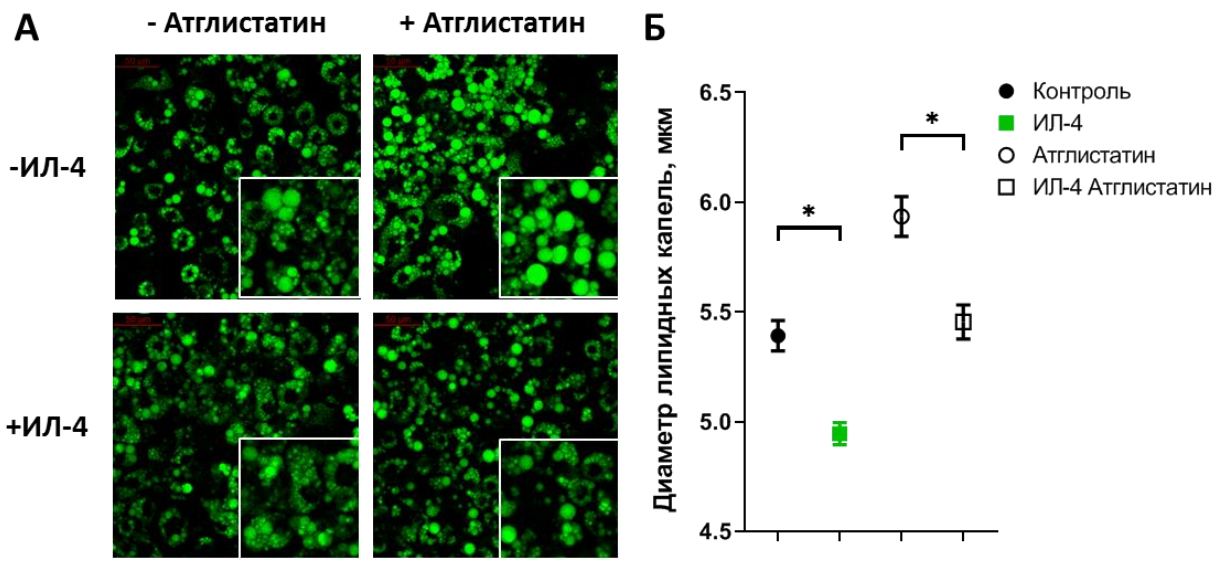

Рис. 11. Оценка роли ATGL в фрагментации ЛК под действием ИЛ-4. А – репрезентативные микрофотографии адипоцитов, окрашенных BODIPY493/503, размерный отрезок – 50 мкм; Б – средний размер ЛК в адипоцитах; *-p<0,05, ANOVA.

Ингибирование ATGL увеличивало средний размер ЛК в жировых клетках. ИЛ-4, наоборот, вызывает уменьшение их размера. На фоне увеличения капель при ингибировании ATGL, ИЛ-4 сохраняет способность стимулировать фрагментацию, что приводит к уменьшению среднего размера капель до уровня контроля (Рис. 11). Полученные результаты показывают, что ИЛ-4 и атглистатин действуют аддитивно, и ИЛ-4 вызывает фрагментацию ЛК по ATGL-независимому механизму.

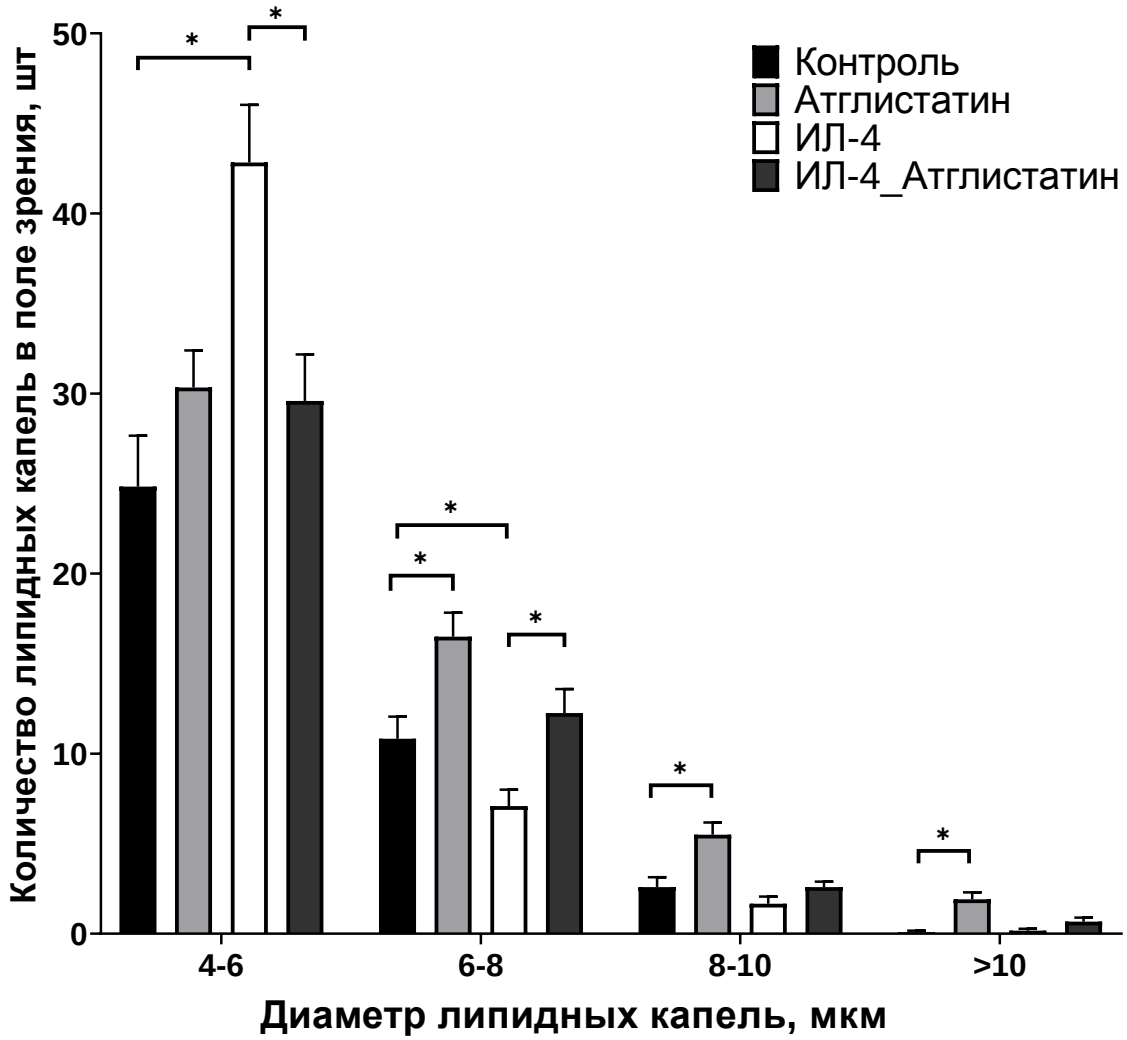

Рис. 12. Распределение ЛК по размеру в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4 в присутствии атглистатина; * - $p<0,05$, ANOVA.

Подробный анализ влияния ИЛ-4 и атглистатина на количество капель разного размера (Рис. 12) также подтверждает разнонаправленное действие этих веществ, эффекты которых суммируются, что наиболее выражено для капель с диаметром 6-8 мкм. При ингибировании ATGL ИЛ-4 не стимулировал образование мелких ЛК диаметром 4-6 мкм. Вероятно, при суммировании эффектов атглистатина и ИЛ-4 на динамику ЛК различия в некоторых размерных категориях могут нивелироваться. Несмотря на это, снижение среднего размера ЛК под действием ИЛ-4 сохранялось при ингибировании ATGL (Рис. 11 Б).

Возможно, регуляция фрагментации под действием ИЛ-4 осуществляется через другие липазы (например, гормон чувствительную липазу), поэтому далее мы

оценили действие ИЛ-4 на морфологию капель при ингибировании всех основных липаз адипоцитов с помощью орлистата (Рис. 13, 14).

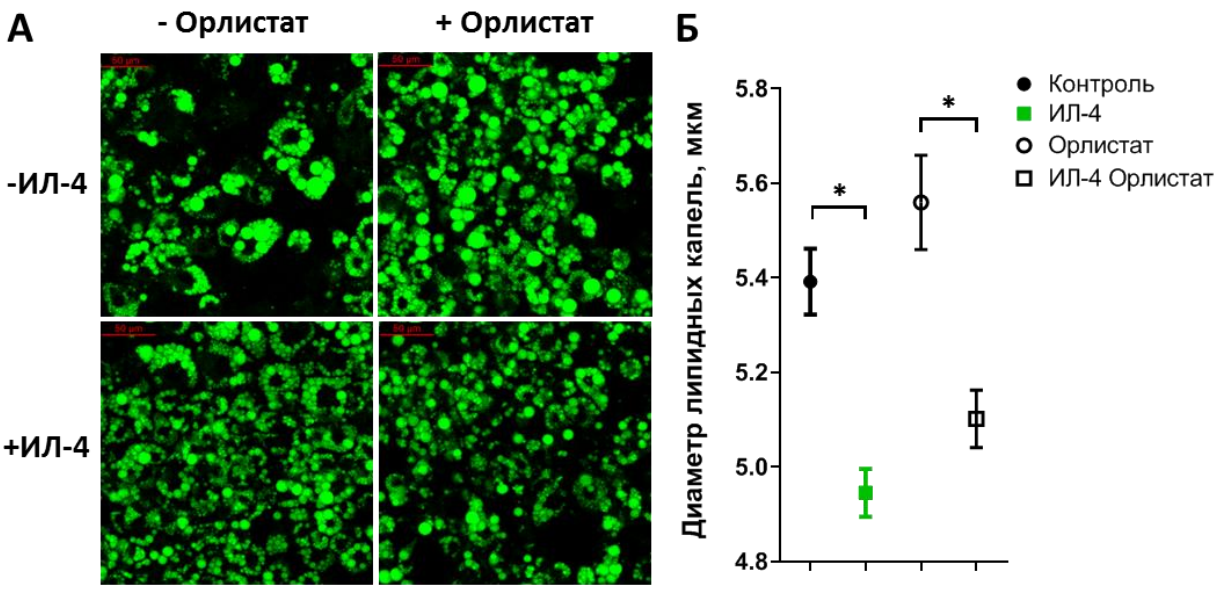

Рис. 13. Оценка роли липолиза в фрагментации ЛК под действием ИЛ-4. А – репрезентативные микрофотографии адипоцитов, окрашенных BODIPY493/503, размерный отрезок – 50 мкм; Б – средний размер ЛК в адипоцитах; *-p<0,05, ANOVA.

Орлистат так же, как и атглистатин, увеличивал средний размер ЛК в адипоцитах (Рис. 13), но в отличие от атглистатина, он увеличивал образование крупных ЛК с диаметром более 10 мкм и не изменял количество более мелких капель (Рис. 14). Возможно, эффект орлистата менее выражен из-за его ингибиторного действия не только на липазы, но и на синтазу ЖК (Wilhelm et al., 2022).

При ингибировании липолиза с помощью орлистата ИЛ-4 сохранял способность к фрагментации ЛК (Рис. 13). При подробном анализе распределения ЛК по размеру (Рис. 14) выявлено, что орлистат снижает влияние ИЛ-4 на количество капель диаметром 4-6 и 6-8 мкм. Интересно, что ИЛ-4 предотвращает образование очень крупных ЛК (> 10 мкм) под действием орлистата.

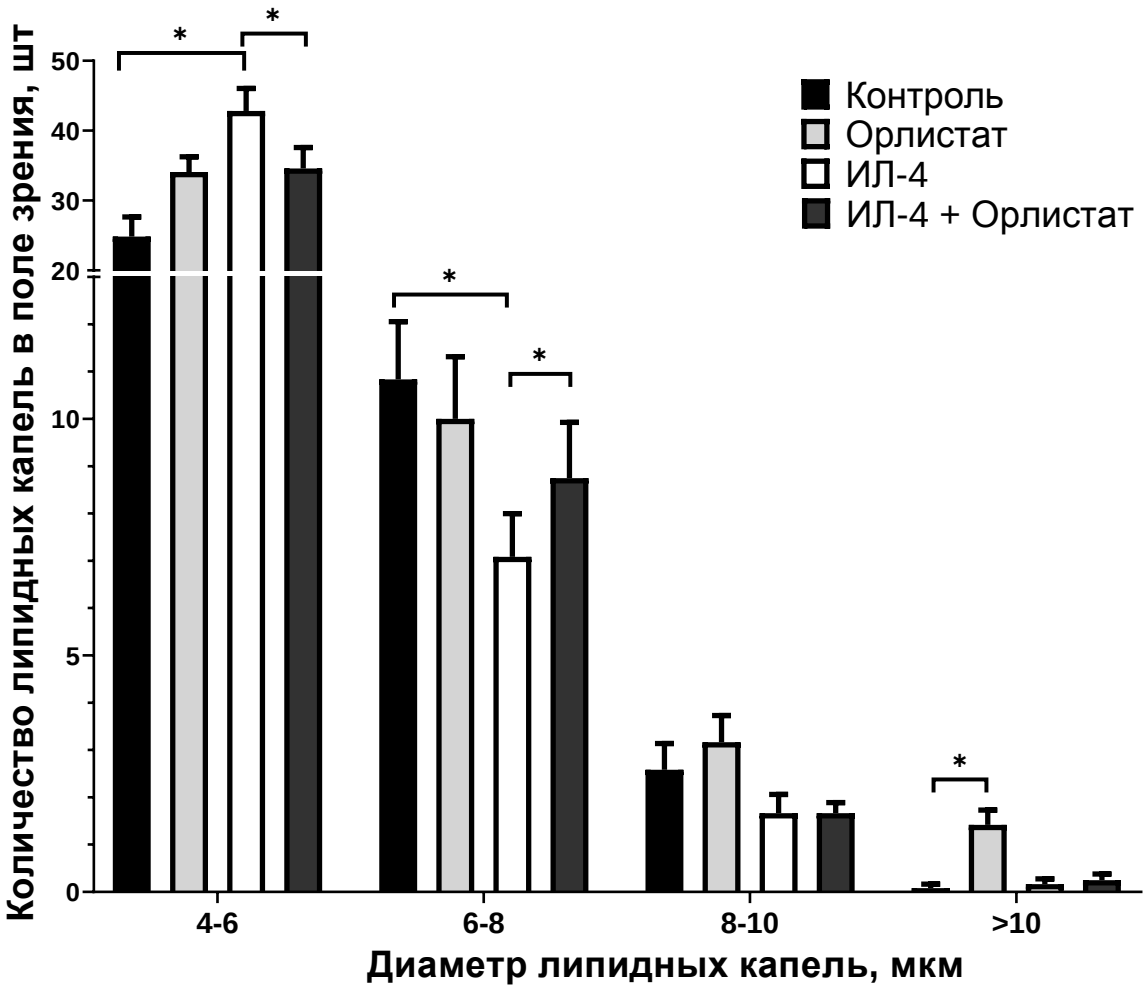

Рис. 14. Распределение ЛК по размеру в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4 в присутствии орлистата; *-p<0,05, ANOVA.

Полученные результаты о суммации эффектов ИЛ-4 и орлистата также подтверждают гипотезу о том, что фрагментация под действием ИЛ-4 происходит не вследствие активации липолиза. Напротив, возможно, ИЛ-4 активирует фрагментацию капель через регуляторные белки поверхности ЛК, что способствует активации липолиза. Для исследования влияния ИЛ-4 на регуляторные белки поверхности ЛК мы оценивали экспрессию белка-регулятора слияния ЛК FSP27 и белка G0S2, регулирующего активность ATGL (Рис. 15). В дополнение, мы изучали экспрессию неканонической липазы карбоксилэстеразы Ces1d, так как она также может играть важную роль в регуляции липолиза под действием ИЛ-4 (Рис. 15 А, Б).

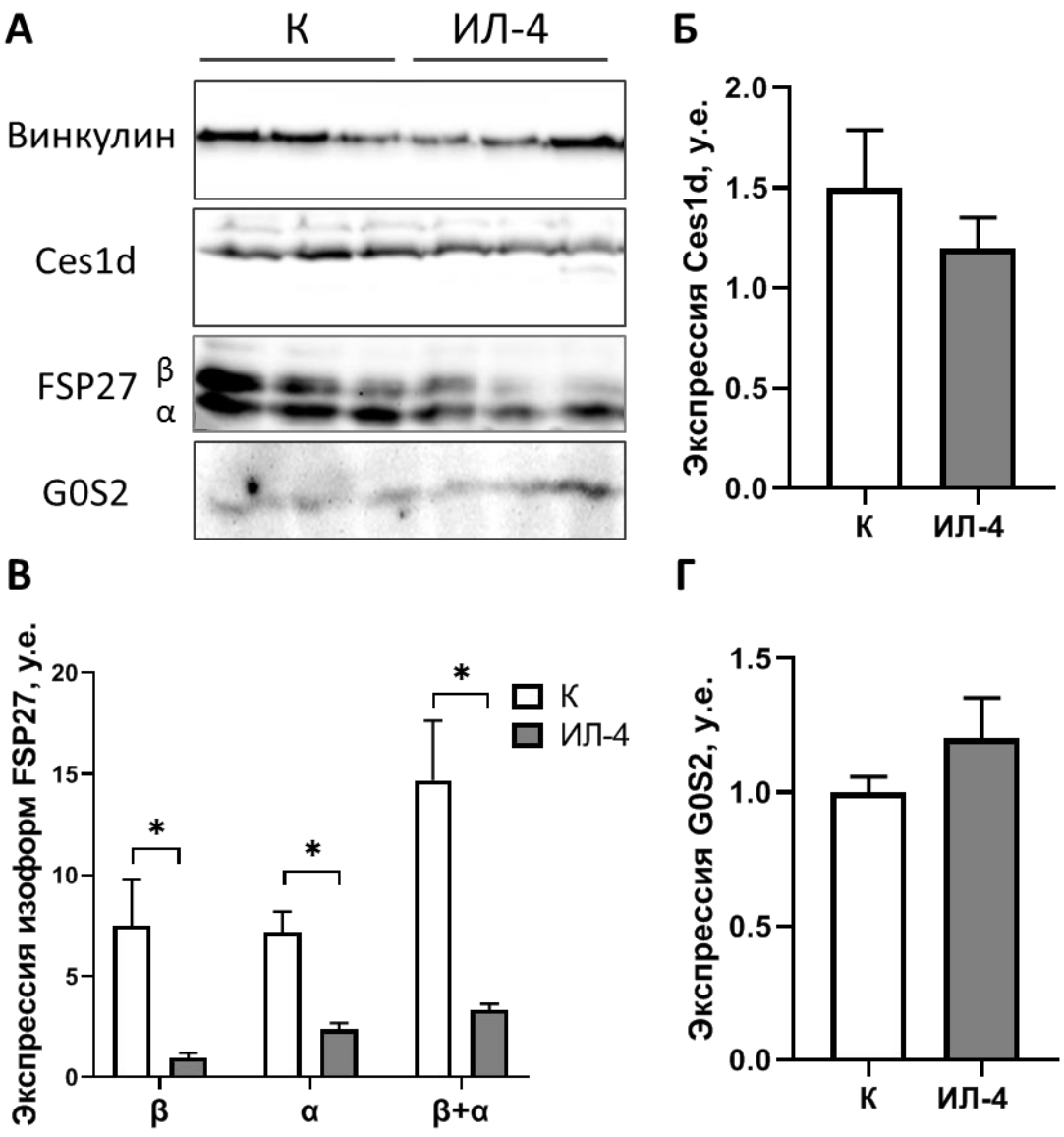

Рис. 15 Анализ экспрессии белков, ассоциированных с ЛК адипоцитов, стимулированных ИЛ-4. А – репрезентативные иммуноблоттинги, Б – расчет относительной экспрессии липазы Ces1d, В – расчет относительной экспрессии FSP27, Г – расчет относительной экспрессии G0S2, * - $p<0,05$, ANOVA.

Мы показали, что ИЛ-4 не влияет на экспрессию G0S2 и Ces1d (Рис. 15 Б, Г), что также соответствует гипотезе о том, что ИЛ-4 не регулирует активность липаз. ИЛ-4 значительно снижает экспрессию α и β изоформ белка FSP27 (Рис. 15 В), которые необходимы для слияния ЛК. Таким образом, ИЛ-4 может вызывать фрагментацию ЛК в зрелых адипоцитах за счет снижения экспрессии FSP27.

3.7. Регуляция термогенеза в адипоцитах под действием ИЛ-4

В разделах 3.1, 3.4, 3.5 мы показали, что ИЛ-4 одновременно увеличивает активность окисления глюкозы, фрагментацию ЛК и липолиз в жировых клетках. Описанные изменения метаболизма характерны для бежевых адипоцитов при активации термогенеза (Singh et al., 2020). Кроме того, мы обнаружили, что активация липолиза под действием ИЛ-4 не сопровождается секрецией продуктов гидролиза ТАГ из адипоцитов, что позволяет предположить активацию термогенного ТАГ цикла.

Активность термогенеза в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4, оценивали с помощью термочувствительного зонда ERthermAC (Рис. 16), флуоресценция которого снижается при повышении температуры внутри клетки. Активность термогенеза рассчитывали по формуле A=(Fc-Fs)/Fc, где Fc – интенсивность флуоресценции в контрольных клетках, Fs - интенсивность флуоресценции в клетках после воздействия (Рис. 16 Б).

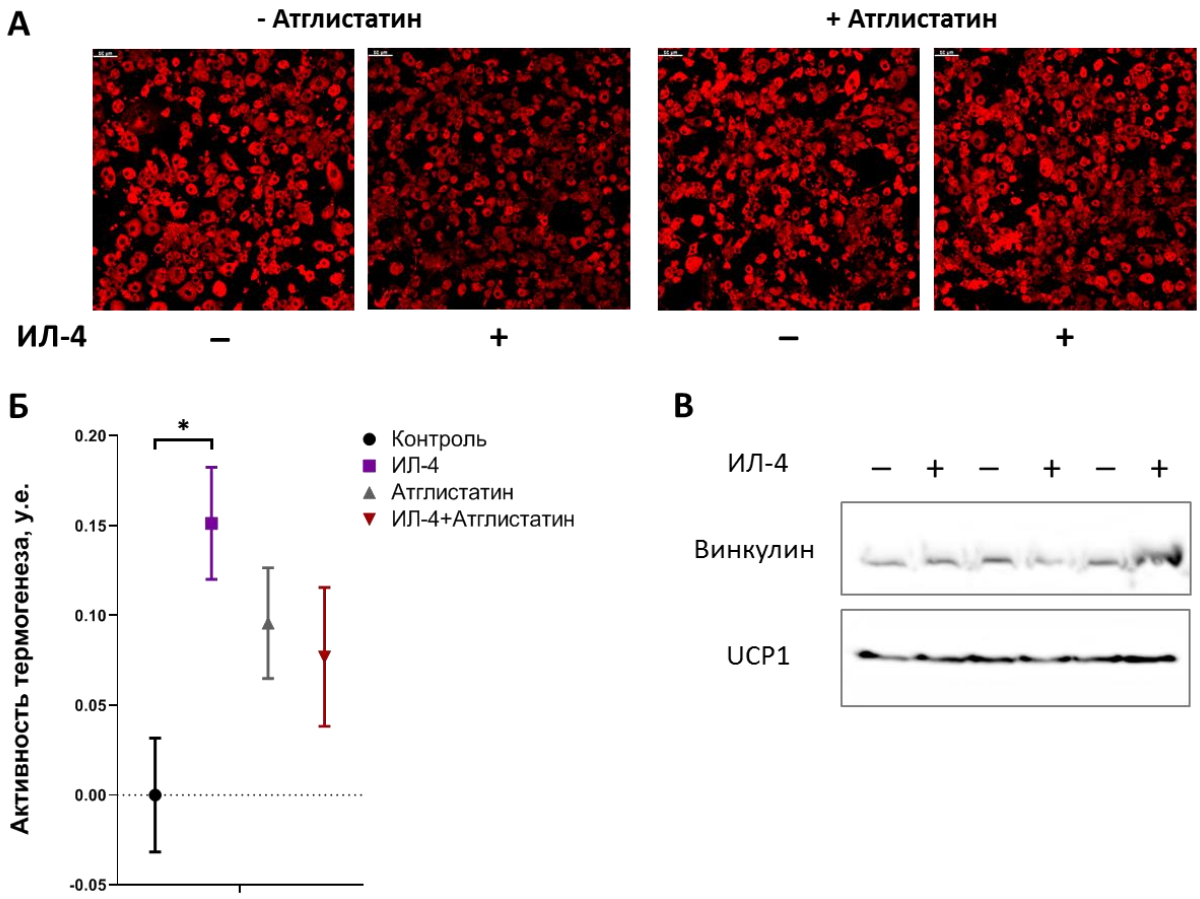

Рис. 16. Оценка активности термогенеза в адипоцитах. А – репрезентативные микрофотографии адипоцитов, визуализированных с помощью флуоресцентного зонда ERthermAC, размерный отрезок 50 мкм; Б – расчет активности термогенеза по интенсивности флуоресценции ERthermAC; В – оценка экспрессии UCP1 методом иммуноблоттинга; *-p<0,05, ANOVA.

Мы показали, что ИЛ-4 увеличивает активность термогенеза в зрелых адипоцитах. Канонический механизм термогенеза заключается в повышении экспрессии и активности белка-разобщителя внутренней мембраны митохондрий UCP1. Мы показали, что ИЛ-4 не влияет на экспрессию UCP1 (Рис. 16 В), поэтому, возможно, ИЛ-4 активирует альтернативный механизм термогенеза.

Далее мы отметили, что при ингибировании ATGL активация термогенеза под действием ИЛ-4 не происходит. Соответственно, способность ИЛ-4 стимулировать выработку тепла зависит от активности ATGL. ATGL является скорость-лимитирующим ферментом липолиза, поэтому его ингибирование приводит к

замедлению ТАГ цикла. Участие ATGL в ИЛ-4-стимулированном термогенезе свидетельствует в пользу активации ТАГ-цикла.

3.8. Исследование роли ATGL в активации окисления глюкозы под действием ИЛ-4

По результатам описанных выше экспериментов мы предположили, что ИЛ-4 ускоряет циклическое превращение ТАГ/ЖК в адипоцитах, что увеличивает потребность в АТФ и активирует окисление глюкозы. Согласно этой гипотезе, активация гликолиза и митохондриального поглощения O_2 в присутствии ИЛ-4 должны зависеть от активности ферментов, катализирующих ТАГ цикл, например, липазы ATGL. Для проверки гипотезы мы исследовали взаимосвязь усиления гликолиза и митохондриального окисления под действием ИЛ-4 с активностью ATGL (Рис. 17).

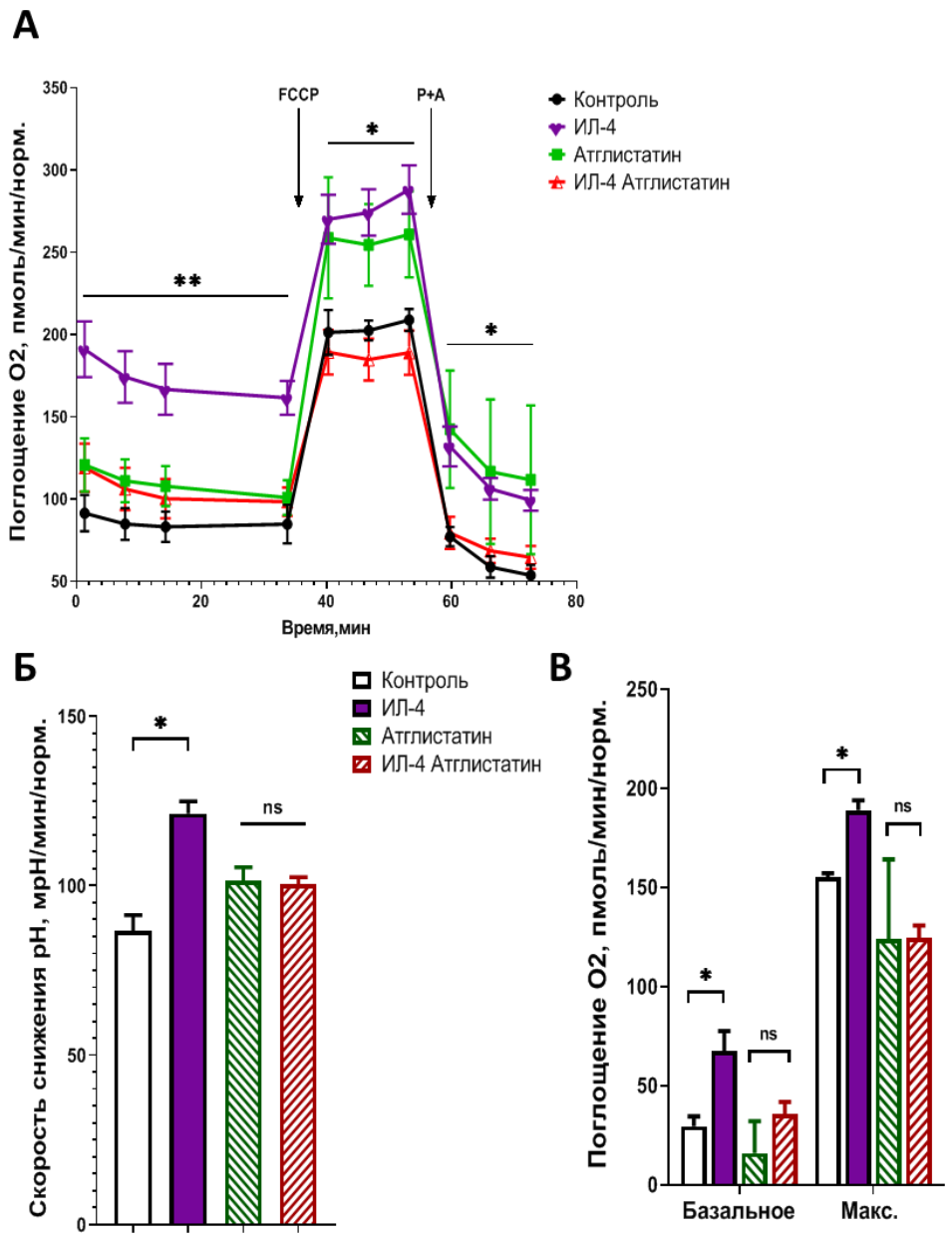

Рис. 17. Влияние ИЛ-4 на окисление глюкозы в адипоцитах при ингибировании ATGL. А – анализ активности поглощения O_2; Б – определение активности гликолиза по скорости снижения pH среды; В – расчет базального и максимального разобщенного поглощения O_2; FCCP – карбонилцианид-п-трифторметоксифенилгидразон (разобщитель внутренней мембраны митохондрий), P+A – ротенон и антимицин А (ингибиторы комплексов I и III ЭТЦ); **-$p<0,01$, *-$p<0,05$ при сравнении контроля и ИЛ-4, ns – $p>0,05$, ANOVA.

При ингибировании ATGL мы не наблюдали активацию гликолиза и поглощения кислорода в митохондриях под действием ИЛ-4 (Рис. 17). Таким образом,

активация углеводного метаболизма под действием ИЛ-4 тесно взаимосвязана с липолизом, что также соответствует гипотезе об активации футильного ТАГ цикла.

Ингибирование ATGL может снимать эффект ИЛ-4 на митохондриальную активность не только за счет активации футильного ТАГ цикла, но и из-за снижения концентрации свободных ЖК, которые могут регулировать разобщение внутренней митохондриальной мембраны (Fedorenko et al., 2012). Для оценки роли свободных ЖК мы провели исследование влияния ИЛ-4 на окислительные процессы при добавлении 100 мкМ пальмитата (Рис. 18).

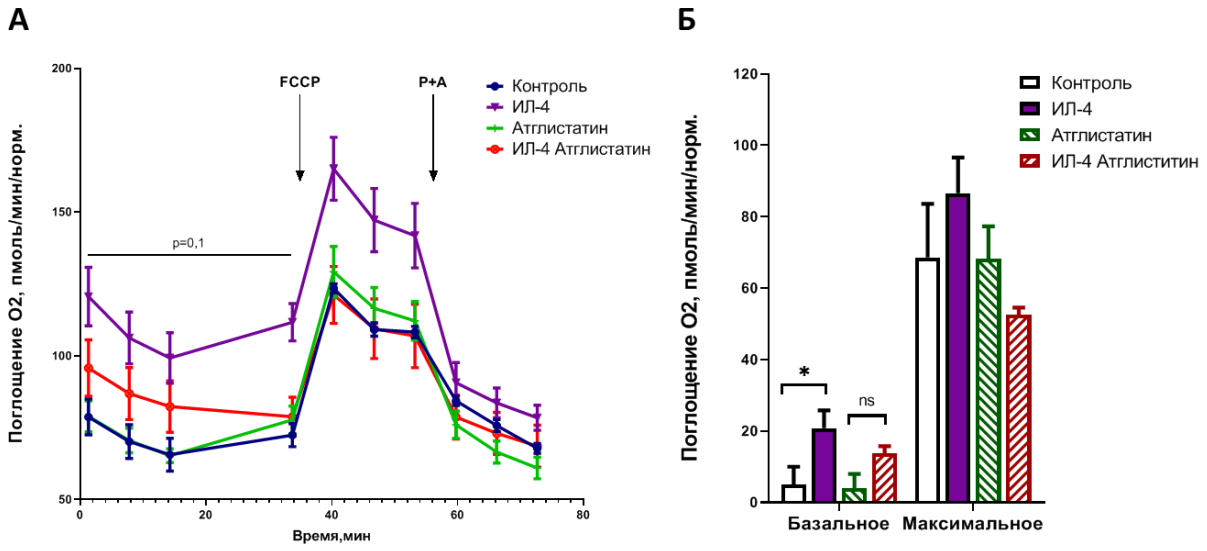

Рис. 18. Влияние ИЛ-4 на митохондриальную активность адипоцитов, культивированных в среде с высоким содержанием глюкозы и 100 мкМ пальмитата. А – анализ активности поглощения O_2 клетками; Б – расчет базального и максимального разобщенного поглощения O_2; FCCP – карбонилцианид-п-трифторметоксифенилгидразон (разобщитель внутренней мембраны митохондрий), P+A – ротенон и антимицин А (ингибиторы комплексов I и III ЭТЦ); **-$p<0,01$, *-$p<0,05$ при сравнении контроля и ИЛ-4, ns – $p>0,05$, ANOVA.

Мы показали, что в адипоцитах, культивированных в среде с содержанием 100 мкМ пальмитата, ИЛ-4 активировал базальное поглощение кислорода в митохондриях. Влияние на немитохондриальное и максимальное разобщенное поглощение O_2 было статистически незначимо. При ингибировании ATGL ИЛ-4 также утрачивал

способность к стимуляции окислительного метаболизма митохондрий, как и в клетках без добавления пальмитата. Полученные данные опровергают предположение о том, что ИЛ-4 стимулирует активность митохондрий только за счет повышения концентрации ЖК внутри адипоцитов, и свидетельствуют в пользу гипотезы об активации футильного ТАГ цикла.

4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1. Активация окисления глюкозы

Исследование механизмов метаболического действия ИЛ-4 на адипоциты является продолжением работ, продемонстрировавших активацию поглощения глюкозы под действием этого цитокина. Известно, что жировые клетки поглощают глюкозу для включения в разнообразные метаболические пути. Важнейшими из них являются гликолиз, ЦТК и синтез липидов. Мы предположили, что ИЛ-4 активирует поглощение глюкозы для усиления одного или нескольких указанных метаболических процессов.

В первую очередь мы исследовали влияние ИЛ-4 на активность основных путей катаболизма глюкозы: гликолиза и митохондриального окисления. Было показано, что ИЛ-4 активирует гликолиз и поглощение кислорода в зрелых адипоцитах (Рис. 1). Активация базального поглощения кислорода может происходить в клетках при повышении скорости синтеза АТФ или при разобщении внутренней мембраны митохондрий по различным механизмам (экспрессия UCP1, открытие митохондриальной поры). Вклад этих процессов не исследовали в представленной работе.

Увеличение базального митохондриального поглощения кислорода отражает как увеличение активности ЭТЦ, так и стимуляцию метаболических путей, снабжающих ЭТЦ восстановительными эквивалентами НАДН и $ФАДН_2$. При использовании глюкозы в качестве основного энергетического субстрата НАДН и $ФАДН_2$ образуются в ходе гликолиза и ЦТК, поэтому ИЛ-4 активирует один или оба из указанных метаболических путей.

Далее мы показали, что ИЛ-4 активирует гликолиз, так как ускоряет снижение pH среды культивирования, что отражает накопление лактата. Экспорт лактата необходим для возобновления пула окисленного $НАД^+$ для поддержания постоянной высокой скорости гликолиза. Высокая активность гликолиза была показана как в белых, так и в бурых и бежевых адипоцитах. В белых адипоцитах

гликолиз необходим для продукции Г3Ф, используемого в липогенезе (Katz et al., 1974; Francendese et al., 1981; Chen et al., 2016). Кроме того, интермедиаты и продукты гликолиза являются стимуляторами адипогенеза (Petersen et al., 2017; Harada et al., 2018). Гликолиз и продукция лактата активируются в термогенных адипоцитах в ответ на холодовую стимуляцию. Вероятно, интенсивный гликолиз может питать несколько метаболических путей, включая производство АТФ (для компенсации сниженной эффективности синтеза АТФ в митохондриях), пентозофосфатный путь и синтез Г3Ф (Hankir et al., 2018). Секреция лактата необходима для эффективного использования глюкозы бежевыми адипоцитами (Lagarde et al., 2021a). Это связано с ключевой ролью производства и экспорта лактата для окислительно-восстановительного гомеостаза (Lagarde et al., 2021b). Таким образом, повышение активности гликолиза под действием ИЛ-4 может быть необходимо как для поддержания высокой скорости окислительных процессов для синтеза АТФ или термогенеза, так и для снабжения липогенеза углеродными скелетами.

Кроме повышения базальной митохондриальной активности мы показали влияние ИЛ-4 на максимальное разобщенное и немитохондриальное поглощение кислорода в адипоцитах. Максимальное разобщенное поглощение O_2 оценивается при добавлении разобщителя внутренней мембраны митохондрий, который снижает протонный градиент и имитирует состояние повышенной потребности клетки в энергии. При этом происходит стимуляция работы дыхательной цепи до максимального уровня. Увеличение максимального разобщенного поглощения O_2 под действием ИЛ-4 свидетельствует о повышении потенциальных возможностей адипоцитов повысить активность ЭТЦ и митохондриального окисления для удовлетворения возрастающих энергетических потребностей. Наблюдаемый рост резервной окислительной активности митохондрий под действием ИЛ-4 может быть связан с изменением различных параметров. Максимальное разобщенное поглощение O_2 может стимулироваться за счет увеличения количества или активности комплексов ЭТЦ, которая зависит от экспрессии, пост-трансляционных

модификаций белков ЭТЦ, образования суперкомплексов ЭТЦ и изменения формы крист внутренней мембраны (Cogliati et al., 2021). Кроме того, максимальная активность митохондрий может определяться работой механизмов контроля качества митохондрий, включающих митофагию, биогенез и динамику митохондрий (Marchetti et al., 2020). Для исследования некоторых из указанных механизмов мы оценили количество митохондрий по экспрессии белка TOMM20, сравнили экспрессию субъединиц комплексов ЭТЦ, а также экспрессию белка Opa1, регулирующего динамику митохондрий (Рис. 2). Мы показали, что ИЛ-4 не влияет на количество TOMM20 и экспрессию субъединиц комплексов ЭТЦ. Также мы предположили, что ИЛ-4 может влиять на динамику митохондрий, которая определяет их активность и эффективность синтеза АТФ (Michurina et al., 2021). Было показано, что ИЛ-4 не изменяет экспрессию одного из основных медиаторов слияния митохондрий Opa1. Таким образом, мы исследовали некоторые экспрессионные механизмы, через которые может осуществляться регуляция активности митохондрий под действием ИЛ-4. Вероятно, изменение митохондриального поглощения кислорода связано с другими молекулярными регуляторами. Кроме того, изменение окислительной активности митохондрий может быть следствием их ассоциации с другими органоидами, например, ЛК, так как ИЛ-4 оказывают существенное влияние на их динамику. Известно, что взаимодействие митохондрий и ЛК активирует синтез АТФ в митохондриях (Chen et al., 2022). Исследование данного явления в адипоцитах, стимулированных ИЛ-4, является предметом для будущих исследований.

Кроме базального и максимального, ИЛ-4 повышает и немитохондриальное поглощение кислорода. Рост этого параметра может быть связан с активностью различных ферментов, включающих НАДФН-оксидазы, гемоксигеназы, пероксидазы, регулирующие сигнальные и метаболические пути. Немитохондриальное поглощение O_2 наблюдается в клетках, активно секретирующих белки, так как в процессе их сворачивания и образования дисульфидных мостиков задействованы оксидоредуктазы (Robinson et al., 2020).

Известно, что ИЛ-4 может изменять секреторную активность различных типов клеток (Smith et al., 2016; Lee et al., 2017b; Зубкова et al., 2022). Возможно, он способен изменять секреторный фенотип и жировых клеток, регулировать синтез адипокинов.

Таким образом, мы показали, что ИЛ-4 стимулирует катаболизм глюкозы в адипоцитах. Он повышает активность и гликолиза, и митохондриального окисления, активирует энергетический метаболизм зрелых жировых клеток. Интересно, что ИЛ-4 не вызывает активацию только одного пути энергетического метаболизма, как это происходит в иммунных клетках, где ИЛ-4 переключает энергетический метаболизм с гликолитического на митохондриальный, что необходимо для поляризации клеток. Вероятно, это связано с уникальными особенностями адипоцитов, которые поддерживают липидный метаболизм только при высокой активности как гликолиза, так и ЦТК. Одновременная активация гликолиза и митохондриального поглощения O_2 наиболее характерна для термогенных адипоцитов, поэтому действие ИЛ-4 может быть связано со смещением фенотипа клеток в сторону бежевой дифференцировки. Активация поглощения и окисления глюкозы является показателем усиления ее утилизации в адипоцитах, что позволяет предположить участие жировых клеток в снижении уровня глюкозы в крови животных при воздействии ИЛ-4.

4.2. Сигнальные механизмы регуляции поглощения глюкозы под действием ИЛ-4

Мы показали, что ИЛ-4 способен активировать утилизацию глюкозы в адипоцитах путем окисления, что подтверждает перспективы применения ИЛ-4 в качестве стимулятора расходования глюкозы при гипергликемии. С другой стороны, ИЛ-4 оказывает плейотропное действие на иммунные клетки и клетки негематопоэтического ряда, что сопряжено с активацией и других процессов, включающих аллергические реакции и фиброз. Исследование сигнальных механизмов действия ИЛ-4 в жировых клетках позволит предложить способы специфической регуляции метаболизма ЖТ, активации окисления глюкозы. По

данным литературы, ИЛ-4 действует через несколько сигнальных путей. ИЛ-4 может активировать транскрипционный фактор STAT6, который помимо регуляции генов иммунного ответа оказывает влияние на экспрессию метаболических белков. Именно STAT6 является медиатором активации окислительного фосфорилирования, поглощения и окисления ЖК в макрофагах и других иммунных клетках, так как он взаимодействует с транскрипционными факторами PGC1α и β (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1), PPARγ, α и δ, регулирует экспрессию CD36, липопротеинлипазы, карнитинпальмитоил трансферазы 1, дегидрогеназ ЖК (Vats et al., 2006; Kälin et al., 2017; Kang et al., 2019).

Ранее мы показали, что ИЛ-4 активирует STAT6 в адипоцитах, поэтому исследовали его роль в регуляции утилизации глюкозы. Мы обнаружили, что способность ИЛ-4 к увеличению поглощения глюкозы не снижается при подавлении экспрессии STAT6 на 90% (Рис. 3 Б). Мы сделали вывод, о том, что влияние ИЛ-4 на поглощение глюкозы осуществляется STAT6-независимо. Тем не менее, возможно, нокдаун STAT6 не оказывает влияние в связи с неполным подавлением экспрессии транскрипционного фактора, и небольшое количество STAT6 способно опосредовать влияние ИЛ-4 на метаболизм глюкозы. По данным анализа окислительного метаболизма глюкозы на приборе Seahorse ИЛ-4 не активирует гликолиз и митохондриальную активность в адипоцитах, экспрессирующих shРНК-STAT6 (Рис. 3 В-Д). При этом мы обнаружили, что трансдукция адипоцитов лентивирусными векторами оказывает существенное влияние на исследуемые процессы. Вероятно, именно из-за неспецифического действия генетических конструкций невозможно оценить роль транскрипционного фактора STAT6 в регуляции окисления глюкозы. Мы предполагаем, что лентивирусные конструкции могут активировать провоспалительные сигнальные пути в адипоцитах, так как жировые клетки экспрессируют рецепторы распознавания паттернов патогенности (Könner et al., 2011; Engin, 2017). Известно, что под действием провоспалительных стимулов клетки изменяют метаболические

характеристики, в них происходит стимуляция гликолиза и подавление окислительного фосфорилирования (Soto- Heredero et al., 2020). Также, мы наблюдали рост немитохондриального поглощения кислорода под действием лентивирусных конструкций, что может быть признаком активности НАДФН-оксидаз и пероксидаз при окислительном стрессе.

Рецепторы ИЛ-4 могут связывать и активировать не только STAT6, но и другие сигнальные белки, включающие белки IRS1/2 (Keegan et al., 2018). Фосфорилирование каркасных белков IRS1 и IRS2 по остаткам тирозина является пересечением сигнальных механизмов инсулина и ИЛ-4. Мы предположили, что ИЛ-4 может активировать поглощение глюкозы за счет стимуляции инсулин-зависимых сигнальных путей за счет фосфорилирования IRS1. Мы исследовали изменение уровней фосфорилирования IRS1, а также, основной эффекторной киназы инсулин-зависимого сигнального каскада Akt, которая регулирует транслокацию транспортеров глюкозы в плазматическую мембрану через фосфорилирование белка AS160. Показано, что стимуляция адипоцитов ИЛ-4 не активирует фосфорилирование исследованных белков (Рис. 4). Возможно, ИЛ-4 регулирует фосфорилирование другой изоформы IRS. По данным литературы, ИЛ-4 может регулировать фосфорилирование IRS. Белки IRS различных изоформ во многом могут дублировать функции друг друга, но существуют доказательства разделения регуляции некоторых функций между IRS1 и IRS2 (Heller et al., 2008; Eckstein et al., 2017; Besse-Patin et al., 2019). Исследование роли IRS2 в регуляции метаболизма адипоцитов под действием ИЛ-4 является предметом для будущих исследований.

После изучения сигнальных механизмов действия ИЛ-4 мы исследовали его влияние на регуляцию основных транспортеров глюкозы в адипоцитах GLUT1 и GLUT4. Мы показали, что ИЛ-4 не изменяет экспрессию GLUT1 и GLUT4 (Рис. 5), но основной механизм регуляции входа глюкозы в жировых клетках заключается в изменении внутриклеточной локализации транспортеров. GLUT1 считается неиндуцибельным переносчиком глюкозы, который встроен в плазматическую

мембрану клеток для поддержания их базовых потребностей в глюкозе. GLUT4, напротив, находится в мембране специализированных внутриклеточных везикул, которые сливаются с плазматической мембраной только в ответ на стимуляцию, что многократно увеличивает поступление глюкозы в адипоциты. Мы исследовали влияние ИЛ-4 не только на экспрессию, но и на внутриклеточную локализацию GLUT4 (Рис. 6). Показали, что ИЛ-4 не влияет на транслокацию GLUT4 в плазматическую мембрану. Возможно, ИЛ-4 активирует поглощение глюкозы за счет регуляции других транспортеров, так как адипоциты могут экспрессировать GLUT8, GLUT10, GLUT12 и белки семейства натрий-глюкозных ко-транспортеров (Chadt et al., 2020). Кроме того, работы последних лет показали, что функционирование GLUT1 тоже регулируется через изменение его локализации, хотя и в меньшей степени, чем GLUT4 (Yan et al., 2018). Транслокация GLUT1 зависит от активности транспорта внутриклеточных везикул и может происходить как в ответ на инсулин, так и при стимуляции β3-адренорецепторов для обеспечения термогенеза энергией (Olsen et al., 2014). Возможно, ИЛ-4 способен активировать транслокацию GLUT1.

4.3. Влияние ИЛ-4 на метаболизм липидов

Метаболические превращения углеводов и липидов в жировых клетках тесно взаимосвязаны, так как их координация обеспечивает эффективное запасание липидов. Запасание ТАГ в виде ЛК требует одновременной активации синтетических процессов и катаболизма для получения энергии. Мы показали, что ИЛ-4 активирует поглощение и окисление глюкозы, что может сопровождать активацию синтеза ТАГ. Мы исследовали, регулирует ли ИЛ-4 липогенез и накопление ЛК в адипоцитах (Рис. 7, Рис. 9). Было показано, что ИЛ-4 не влияет на скорость синтеза ТАГ. При этом не происходит изменения активности *de novo* синтеза ЖК и Г3Ф из глюкозы (Рис. 9). Тем не менее, вывод о том, что ИЛ-4 не влияет на липогенез противоречит некоторым предыдущим исследованиям (Ricardo-Gonzalez et al., 2010; Tsao et al., 2014). Мы предполагаем, что это несоответствие может быть результатом различия условий эксперимента. В нашем

исследовании мы исследовали действие ИЛ-4 на зрелые адипоциты, а Tsao и соавторы показали подавление липогенеза в ходе дифференцировки адипоцитов. Кроме того, в работах (Yang et al., 2018; Jun et al., 2020; Wang et al., 2022) показано, что ИЛ-4 активирует липогенез в гепатоцитах, клетках скелетных мышц и эпителиальных клетках мейбомиевых желез. Таким образом, влияние ИЛ-4 на липогенез является тканеспецифичным и зависит от типа и стадии дифференцировки исследуемых клеток.

При анализе накопления ЛК мы обнаружили, что ИЛ-4 не влияет на количество связываемого липофильного красителя, но изменяет морфологию ЛК (Рис. 7). Мы показали, что ИЛ-4 вызывает фрагментацию капель среднего размера и приводит к образованию большого количества мелких ЛК. ЛК в адипоцитах являются центрами липидного и энергетического гомеостаза, поэтому их динамика отражает метаболическое состояние клеток (Onal et al., 2017; Zhang et al., 2021). Размер ЛК зависит от баланса между процессами роста, слияния и расщепления капель (Olzmann et al., 2019). В клетках с высокой активностью липогенеза, которые специализируются на запасании ТАГ, преобладают крупные ЛК. Например, белые адипоциты человека и животных содержат одну очень крупную ЛК. Напротив, бежевые и бурые адипоциты накапливают большое количество мелких ЛК, на поверхности которых активно происходит липолиз (Chen et al., 2022). Соответственно, ИЛ-4 может быть регулятором липолиза или транс-дифференцировки адипоцитов в термогенный фенотип. Согласно некоторым исследованиям, мелкие ЛК являются центрами активности не только липолиза, но и липогенеза, так как они способны взаимодействовать с ЭПР, где локализованы ферменты синтеза липидов (Hashimoto et al., 2012). Таким образом, образование мелких ЛК в адипоцитах может быть индикатором стимуляции липолиза или ТАГ-цикла. ИЛ-4 не оказывает влияние на морфологию крупных липидных капель (с диаметром более 8 мкм). Вероятно, это связано с тем, что очень крупные капли выполняют только функцию накопления ТАГ, поэтому не подвергаются гидролизу.

Фрагментация ЛК происходит при активации липолиза, поэтому мы исследовали, регулирует ли ИЛ-4 липолиз в адипоцитах (Рис. 10). Исследование липолиза проводили в культуре адипоцитов, содержавших меченные ТАГ, и оценивали убывание метки в липидной фракции и секрецию меченых метаболитов в среду культивирования. Мы показали, что при стимуляции ИЛ-4 снижается количество меченых остатков глицерина в ТАГ, но не изменяется количество ЖК и секретируемых продуктов липолиза. Снижение количества меченого глицерина в ТАГ является показателем активации липолиза, так как свободный глицерол не может повторно включаться в ТАГ в адипоцитах из-за отсутствия фермента глицерол киназы. Отсутствие изменений в количестве меченных ЖК и секретируемых продуктов липолиза на фоне гидролиза ТАГ свидетельствует о повторном включении ЖК в ресинтез ТАГ. Действие ИЛ-4 на гидролиз ТАГ нивелировалось при ингибировании первого скорость-лимитирующего фермента липолиза ATGL, что говорит о специфичности наблюдаемых эффектов, а также позволяет предположить, что ИЛ-4 активирует липолиз через регуляцию активности ATGL. Таким образом, ИЛ-4 может повышать активность липолиза или полного ТАГ-цикла, ферменты которого локализованы на поверхности мелких ЛК.

Для исследования взаимосвязи активации липолиза и фрагментации ЛК мы анализировали действие ИЛ-4 на морфологию ЛК при ингибировании липолиза (Рис. 11 – 14). Мы показали, что при ингибировании ATGL или всех ферментов липолиза, ИЛ-4 сохраняет способность к фрагментации ЛК. Кроме того, разнонаправленные эффекты ингибиторов липаз и ИЛ-4 суммируются. Таким образом, ИЛ-4 активирует фрагментацию не за счет стимуляции липолиза. Мы предположили, что фрагментация может быть первостепенным процессом, активируемым ИЛ-4, который затем способствует активации гидролиза ТАГ. Размер ЛК зависит от процессов слияния капель и взаимодействия с другими органеллами, что регулируется белками поверхности ЛК. Мы оценили влияние ИЛ-4 на экспрессию FSP27, основного белка, облегчающего слияние ЛК в адипоцитах (Karki, 2019) (Рис. 15). FSP27 существует в виде двух изоформ α и β. Изоформа

FSP27α в основном экспрессируется в белых адипоцитах и способствует формирования крупных ЛК, выполняющих запасающую функцию (Chen et al., 2022). Изоформа FSP27β, напротив, активно экспрессируется в термогенных адипоцитах, поддерживает ЛК в фрагментированном состоянии и способствует липолизу (Nishimoto et al., 2017). Мы показали, что ИЛ-4 снижает экспрессию обеих изоформ FSP27 (Рис. 15 В). Известно, что подавление экспрессии FSP27 сопряжено с фрагментацией ЛК и активацией окислительной активности митохондрий (Toh et al., 2008). Возможно, именно влияние ИЛ-4 на FSP27 является механизмом метаболического репрограммирования адипоцитов.

Результаты исследования действия ИЛ-4 на морфологию ЛК и липолиз дополняют предыдущие исследования, выполненные под руководством Yih-Hsin Chang (Chang et al., 2012a; Tsao et al., 2014; Shiau et al., 2019). Ранее было показано, что ИЛ-4 стимулирует липолиз для уменьшения накопления липидов за счет повышения активности HSL. Shiau и соавторы показали, что ИЛ-4 активирует в адипоцитах цАМФ-ПКА сигнальный путь, который активирует липолиз через фосфорилирование перилипина 1 и HSL. Также было показано, что ИЛ-4 активирует липолиз *in vivo*, что приводит не только к снижению массы ЖТ, но и к повышению количества ЖК в крови.

Длительное неконтролируемое повышение концентрации свободных ЖК в кровотоке может привести к эктопическому отложению липидов, стеатозу печени и развитию СД2Т (Parker, 2018). Более того, провоспалатиленые цитокины также активируют липолиз в ЖТ и оказывают негативные эффекты на системный липидный метаболизм (Grant et al., 2015). ИЛ-4, наоборот, способствует снижению количества эктопического отложения ТАГ (Ricardo-Gonzalez et al., 2010; Lin et al., 2020). По результатам нашего исследования можно предположить причину различного системного действия про- и противовоспалительных цитокинов при схожем влиянии на липолиз в ЖТ. Мы показали, что ИЛ-4 активирует липолиз без секреции ЖК из адипоцитов, что свидетельствует об их повторной этерификации и включении в ТАГ. Таким образом, ИЛ-4 может стимулировать липолиз не для

транспорта ЖК в другие ткани, а для стимуляции циклического превращения ТАГ/ЖК в ходе ТАГ-цикла. Футильный ТАГ-цикл необходим жировым клеткам для поддержания способности к быстрой адаптации к изменяющимся условиям доступности питательных веществ. Современные исследования показывают, что ТАГ-цикл может выполнять и неклассическую термогенную функцию, так как при его стимуляции возрастает потребность клетки в АТФ и растет активность митохондрий (Flachs et al., 2017). Показано, что в термогенных бурых и бежевых адипоцитах происходит одновременная активация липолиза, липогенеза и ТАГ-цикла, что необходимо для продукции тепла и увеличения расходования энергии при ее избытке. В совокупности, предложенная гипотеза об активации термогенного ТАГ-цикла, а также данные об активации термогенеза под действием ИЛ-4 *in vivo* подтолкнули нас к исследованию влияния ИЛ-4 на термогенез в адипоцитах.

4.4. Активация термогенеза под действием ИЛ-4

Термогенез в жировых клетках наряду с продукцией тепла мышцами во время их работы являются важнейшими регуляторами температуры тела и расходования высокоэнергетических субстратов. В ЖТ канонический механизм термогенеза осуществляется с участием белка-разобщителя внутренней мембраны митохондрий UCP1. UCP1 переносит H^+ из межмембранного пространства в матрикс митохондрий, что разобщает работу ЭТЦ и АТФ-синтазы. При этом происходит стимуляция ЭТЦ, и окислительных процессов, снабжающих ЭТЦ восстановительными эквивалентами. В термогенных адипоцитах активность митохондриального дыхания является основным фактором, определяющим теплопродукцию и расходование глюкозы и ЖК (Nedergaard et al., 1977; Chouchani et al., 2019). Соответственно, кроме UCP1, существуют и другие регуляторы термогенеза, действующие через стимуляцию ЭТЦ за счет повышения потребности клеток в АТФ. На данный момент известно несколько неканонических механизмов термогенеза в адипоцитах: креатиновый субстратный цикл, Ca^{2+}-цикл и ТАГ-цикл

(Chouchani et al., 2019). Все они являются футильными циклами, повышающими потребность клеток в АТФ.

В нашем исследовании мы наблюдали изменения фенотипа и метаболизма жировых клеток под действием ИЛ-4, которые характерны для термогенных бежевых адипоцитов. С использованием термочувствительного флуоресцентного зонда мы показали, что ИЛ-4 увеличивает продукцию тепла в зрелых адипоцитах (Рис. 16). Кроме того, мы обнаружили, что при ингибировании ATGL ИЛ-4 теряет способность к стимуляции термогенеза. Таким образом, активация термогенеза под действием ИЛ-4 зависит от активности липолиза. Наблюдаемая взаимосвязь этих процессов может говорить о том, что ИЛ-4 активирует термогенный ТАГ-цикл, а ингибирование липолиза нарушает его работу. С другой стороны, ЖК, образующиеся в ходе липолиза являются активаторами и классического UCP1-зависимого термогенеза, поэтому мы проверили влияние ИЛ-4 на экспрессию UCP1. По данным иммуноблоттинга, ИЛ-4 не влияет на количество белка UCP1 в зрелых адипоцитах. Полученный результат согласуется с данными предыдущих работ, где показано, что ИЛ-4 повышает экспрессию UCP1 в адипоцитах только при воздействии на их предшественников, но не зрелых адипоцитов. Тем не менее, для получения однозначного ответа о влиянии ИЛ-4 на UCP1-зависимый термогенез, необходимо оценивать активность UCP1.

Альтернативный механизм термогенеза, требующий активации липолиза, заключается в активации циклического распада и ресинтеза ТАГ с затратой АТФ для активации ЖК. Работы последних лет показывают, что ТАГ цикл может вносить существенный вклад в продукцию тепла и увеличение окислительной активности жировых клеток. В исследованиях Veliova и соавторов и Oeckl и соавторов показано, что в бурых адипоцитах может активироваться ТАГ-цикл, который включает циклическое превращение ТАГ/ДАГ+ЖК. Как и в нашем исследовании, ключевую роль в термогенезе играла именно ATGL (Veliova et al., 2020; Oeckl et al., 2022). Таким образом, мы предположили, что ИЛ-4 может активировать альтернативный механизм термогенеза в адипоцитах через

стимуляцию футильного ТАГ-цикла. Чтобы проверить эту гипотезу мы далее исследовали взаимосвязь изменения липидного метаболизма и окисления глюкозы под действием ИЛ-4.

4.5. Взаимосвязь метаболических путей, активируемых ИЛ-4

В нашем исследовании мы подробно описали действие ИЛ-4 на метаболизм глюкозы и ТАГ в жировых клетках. Мы показали, что ИЛ-4 активирует фрагментацию липидных капель, которая способствует липолизу. Активация липолиза не сопровождается секрецией ЖК из адипоцитов, но приводит к активации термогенеза. При этом, ИЛ-4 не влияет на экспрессию классического термогенного белка UCP1. На основании этих данных мы предположили, что ИЛ-4 может активировать термогенный футильный ТАГ-цикл в адипоцитах, что усиливает окислительную активность клеток, сопряженную с продукцией тепла. Если сформулированная гипотеза верна, то активация ТАГ-цикла под действием ИЛ-4 взаимосвязана с окислением глюкозы. Мы оценили влияние ИЛ-4 на гликолиз и митохондриальное поглощение кислорода при ингибировании одного из ключевых ферментов ТАГ-цикла ATGL (Рис. 17). Мы показали, что ингибирование ATGL полностью снимает активацию окисления глюкозы под действием ИЛ-4 в жировых клетках. Полученные результаты демонстрируют взаимосвязь активации углеводного и липидного метаболизма в адипоцитах под действием ИЛ-4. Мы сделали вывод, что липолиз необходим для активации катаболизма глюкозы и повышения митохондриальной активности в ответ на ИЛ-4, что свидетельствует в пользу стимуляции ТАГ-цикла. С другой стороны, в ходе липолиза выделяются ЖК, которые могут выступать в роли разобщителей мембраны, а также стимулировать UCP1-зависимый термогенез. Для получения дополнительных данных о роли липолиза и его продуктов в регуляции углеводного метаболизма под действием ИЛ-4 мы оценивали влияние цитокина на адипоциты, культивированные в среде с 100 мкМ пальмитатом (Рис. 18). При ингибировании ATGL и добавлении ЖК ИЛ-4 не активировал митохондриальное поглощение кислорода, как и в клетках, культивированных в среде только с глюкозой в качестве

энергетического субстрата. Таким образом, активация поглощения кислорода происходит не в ответ на повышение свободных ЖК в адипоцитах. Для стимуляции митохондриальной активности под действием ИЛ-4 необходима именно работа ATGL, которая является важнейшим звеном в цепи ферментативных реакций ТАГ-цикла. Снижение активности одной из реакций приводит к замедлению работы всего футильного цикла и снижению потребности клеток в АТФ. На Рис. 19 представлена схема регуляции метаболизма адипоцитов под действием ИЛ-4.

Гипотеза об активации ТАГ-цикла под действием ИЛ-4 также согласуется с повышением активности гликолиза, так как гликолиз и синтез Г3Ф из интермедиатов гликолиза необходимы для работы ТАГ-цикла. Следует отметить, что существует несколько возможных механизмов функционирования футильного ТАГ-цикла. ТАГ-цикл может включать полный распад ТАГ с деградацией ЖК путем β-окисления и *de novo* липогенез (Solinas et al., 2004). В нашей работе ИЛ-4, вероятно, активирует ТАГ-цикл, включающий только липолиз и повторную этерификацию ЖК, так как ИЛ-4 не влияет на *de novo* липогенез. Остается неисследованным вопрос, включает ли ТАГ-цикл весь путь синтеза ТАГ от Г3Ф или он преимущественно ограничен взаимными превращениями моно-, ди- и триглицеридов (Elia et al., 1987; Flachs et al., 2017; Bardova et al., 2020; Blondin et al., 2020; Hui et al., 2020). Мы предполагаем, что ИЛ-4 может активировать «короткий» ТАГ-цикл, включающий циклическое превращение ТАГ и ДАГ с помощью ферментов ATGL и диацилглицерол ацилтрансфераз DGAT. Исследование влияния ИЛ-4 на активность различных изоформ DGAT и их вклада в термогенез в зрелых адипоцитах является предметом для будущих исследований.

Механизм активации ТАГ-цикла под действием ИЛ-4 может заключаться в его действии на динамику ЛК, экспрессию белков, ассоциированных с ними, и в регуляции взаимодействия ЛК с другими органеллами. Фрагментация ЛК является необходимым фактором активации термогенеза как по UCP1-зависимому механизму, так и при активации ТАГ-цикла (Chen et al., 2022; Qian et al., 2023). Динамика капель определяет формирование функционально гетерогенных пулов

ТАГ. ЛК небольшого размера являются центрами активности метаболических процессов, в том цикле ТАГ-цикла. В настоящее время, механизмы фрагментации ЛК изучены недостаточно подробно. В основном, поддержание морфологии мелких ЛК осуществляется за счет подавления их слияния. Мы показали, что ИЛ-4 снижает экспрессию медиатора слияния ЛК FSP27. Возможно, ИЛ-4 оказывает влияние на экспрессию или локализацию и других регуляторных белков ЛК (Qian et al., 2023). Кроме размера ЛК, на метаболизм липидов влияет внутриклеточная локализация липидных депо. Показано, что ассоциация ЛК с ЭПР и митохондриями определяет метаболическую функцию органелл. Митохондрии, связанные с ЛК отличаются более высокой способностью к синтезу АТФ для поддержания синтеза ТАГ. Более того, количество контактов ЛК с митохондриями увеличивается при активации ТАГ-цикла. Исследование динамического взаимодействия между ЛК и другими органоидами адипоцитов при стимуляции ИЛ-4 позволит предположить механизм регуляции метаболизма углеводов и липидов.

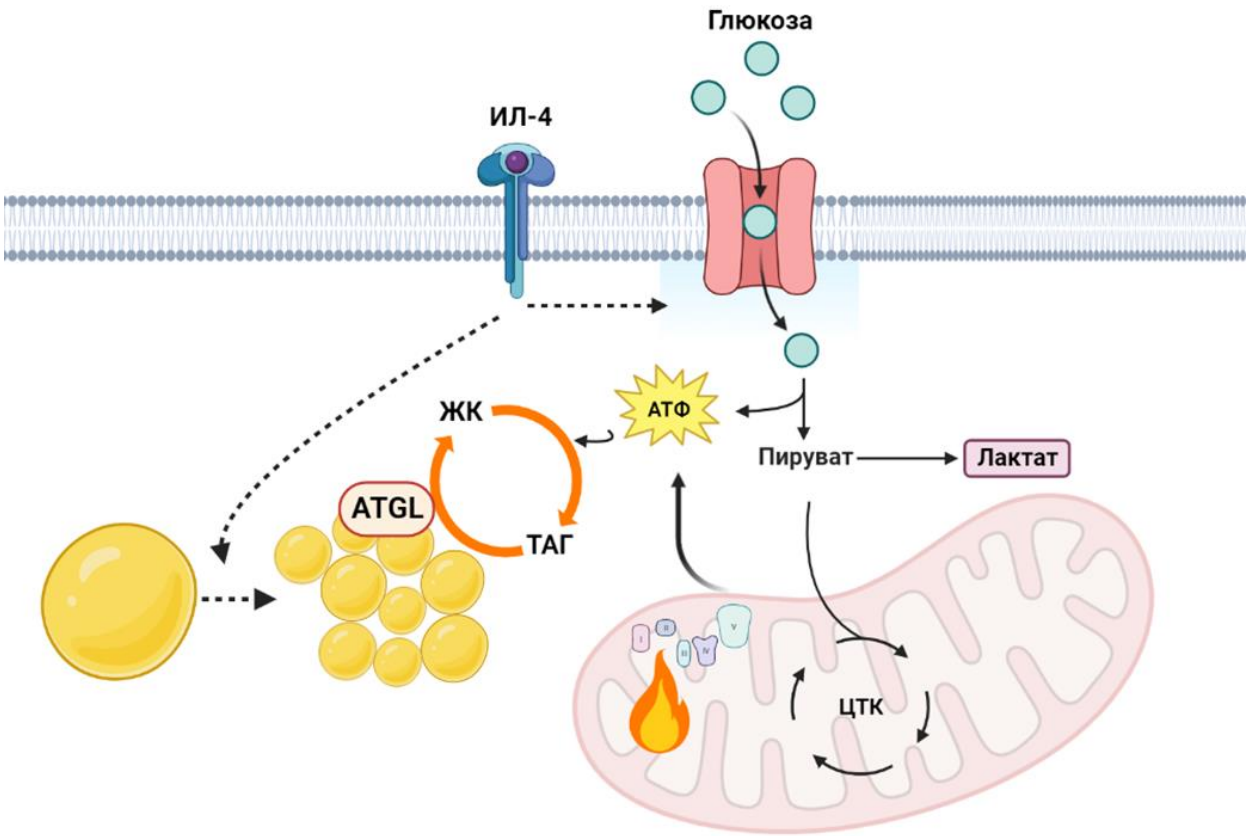

Рис. 19. Механизм поглощения и утилизации глюкозы в адипоцитах под действием ИЛ-4. ИЛ-4 активирует поглощение глюкозы в адипоцитах, что сопряжено с активацией гликолиза и продукцией лактата, а также с повышением активности митохондрий. Стимуляция окисления глюкозы необходима для увеличения синтеза АТФ, потребность в котором возрастает из-за изменения липидного метаболизма. ИЛ-4 активирует фрагментацию липидных капель, что повышает доступность ТАГ для липазы ATGL и способствует стимуляции липолиза. Повышенная липолитическая активность адипоцитов не сопряжена с секрецией ЖК. ЖК используются для реэтерификации с повторным образованием ТАГ. Таким образом, ИЛ-4 стимулирует футильный ТАГ-цикл, который активирует ЭТЦ митохондрий и увеличивает продукцию тепла адипоцитами.

В итоге мы продемонстрировали, ИЛ-4 может задействовать футильный цикл липолиза и повторной этерификации ЖК для выработки тепла в зрелых адипоцитах без влияния на UCP1. Основной этап, определяющий активацию ТАГ-цикла под действием ИЛ-4, включает гидролиз ТАГ ферментом ATGL.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе мы исследовали механизмы регуляции метаболизма адипоцитов под действием противовоспалительного цитокина ИЛ-4. Было показано, что ИЛ-4 регулирует термогенную активность жировых клеток через футильный субстратный цикл липолиза и повторной этерификации ЖК. Активация футильного цикла приводит к повышению энергетических затрат клеток, что сопряжено с увеличением поглощения глюкозы из внеклеточной среды и может способствовать снижению уровня гликемии in vivo. Исследование дополняет и обобщает наблюдения, описанные в предшествующих исследованиях других научных групп. Было известно, что ИЛ-4 активирует липолиз в адипоцитах, но при этом не вызывает эктопического отложения липидов. Оставался нерешенным вопрос, почему про- и противовоспалительные цитокины способны активировать липолиз в адипоцитах, но при этом оказывают противоположные эффекты на системный углеводный и липидный метаболизм. Также было известно, что ИЛ-4 активирует термогенез in vivo за счет стимуляции дифференцировки новых бежевых адипоцитов из предшественников, но не влияет на экспрессию белка UCP1 в зрелых адипоцитах. В нашей работе мы показали, что изменение метаболизма глюкозы и ТАГ под действием ИЛ-4 направлены на активацию термогенеза в зрелых адипоцитах по неканоническому механизму, не связанному с активностью UCP1. Результаты исследования позволяют предположить, что провоспалительные факторы стимулируют липолиз для высвобождения ЖК и их транспорта в другие ткани и органы, что необходимо для получения энергии при борьбе с патогенами. Противовоспалительные цитокины, наоборот, активируют мобилизацию ТАГ и использование ЖК для повышения пластичности липидного метаболизма и расходования избыточной энергии внутри жировой ткани, что важно для поддержания энергетического гомеостаза.

В заключение, мы предложили новый механизм активации термогенного футильного цикла превращения липидов и увеличения расхода энергии в адипоцитах при стимуляции противовоспалительным цитокином ИЛ-4.

Полученные данные свидетельствуют о том, что ИЛ-4 и активируемый им сигнальный каскад являются потенциальными мишенями для увеличения расхода энергии в адипоцитах. Активация утилизации глюкозы в ходе термогенеза способствует снижению гипергликемии, уменьшению накопления липидов, что может нормализовать системный энергетический метаболизм у пациентов с ожирением и кардиометаболическими нарушениями, связанными с избытком потребления питательных веществ. В свете ограниченной способности бурой жировой ткани человека к UCP1-зависимому термогенезу, исследование регуляции футильных циклов представляет первостепенный интерес, поскольку они могут играть более важную роль для энергетического баланса человека (Chondronikola et al., 2016; Blondin et al., 2020), чем предполагалось до сих пор. В будущем регуляция ТАГ-цикла может стать новым подходом к увеличению расхода энергии в организме, снижению развития ожирения.

ВЫВОДЫ

1. ИЛ-4 активирует гликолиз и митохондриальное поглощение кислорода в адипоцитах.
2. Белки STAT6 и IRS1 не участвуют в активации поглощения глюкозы под действием ИЛ-4.
3. ИЛ-4 стимулирует липолиз и фрагментацию липидных капель в адипоцитах, не оказывая влияние на липогенез.
4. ИЛ-4 повышает активность термогенеза в адипоцитах.
5. Активация термогенеза и окисления глюкозы под действием ИЛ-4 зависит от активности ATGL.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах:

1. Michurina S., Stafeev I., Podkuychenko N., Sklyanik I., Shestakova E., Yah'yaev K., Yurasov A., Ratner E., Menshikov M., Parfyonova Y., Shestakova M. Decreased UCP-1 expression in beige adipocytes from adipose-derived stem cells of type 2 diabetes patients associates with mitochondrial ROS accumulation during obesity // Diabetes Res. Clin. Pract. 2020. V. 169. P. 108410.

2. Michurina S., Stafeev I., Beloglazova I., Zubkova E., Mamontova E., Kopylov A., Shevchenko E., Menshikov M., Parfyonova Y. Regulation of Glucose Transport in Adipocytes by Interleukin-4 // J. Interferon Cytokine Res. 2022. J. Int. Soc. Interferon Cytokine Res. 2022. V. 42. № 3. P. 127–136.

3. Michurina S., Stafeev I., Boldyreva M., Truong V.A., Ratner E., Menshikov M., Hu Y.-C., Parfyonova Y. Transplantation of Adipose-Tissue-Engineered Constructs with CRISPR-Mediated UCP1 Activation // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. № 4. P. 3844.

4. Michurina S.S., Stafeev I.S., Menshikov M.Y., Parfyonova Y.V. Mitochondrial dynamics keep balance of nutrient combustion in thermogenic adipocytes // Mitochondrion. 2021. V. 59. P. 157–168.

5. Stafeev I., Michurina S., Agareva M., Zubkova E., Sklyanik I., Shestakova E., Gavrilova A., Sineokaya M., Ratner E., Menshikov M., Parfyonova Y., Shestakova M. Visceral mesenchymal stem cells from type 2 diabetes donors activate triglycerides synthesis in healthy adipocytes via metabolites exchange and cytokines secretion // Int. J. Obes. 2005. 2023. V. 47. № 8. P. 732–742.

6. Stafeev I.S., Michurina S.S., Podkuychenko N.V., Vorotnikov A.V., Menshikov M.Y., Parfyonova Y.V. Interleukin-4 Restores Insulin Sensitivity in Lipid-Induced Insulin-Resistant Adipocytes // Biochemistry (Moscow). 2018. V. 83. № 5. P. 498–506.

7. Юдаева А. Д., Стафеев Ю.С., Мичурина С.С., Меньшиков М.Ю., Шестакова М.В., Парфенова Е.В. Взаимодействие воспаления и инсулиновой резистентности: молекулярные механизмы в инсулинопродуцирующих и инсулинозависимых тканях // Сахарный диабет. 2023. V. 26. №. 1. P. 75-81.

8. Стафеев Ю.С., Юдаева А. Д., Мичурина С.С., Меньшиков М.Ю., Шестакова М.В., Парфенова Е.В. Взаимодействие воспаления и инсулиновой резистентности: перспективы иммунорегуляции как потенциального инструмента терапии сахарного диабета 2 типа // Сахарный диабет. 2023. V. 26. №. 2. P. 192-202.

Тезисы докладов:

9. Мичурина С.С., Стафеев Ю.С., Белоглазова И.Б., Зубкова Е.С., Меньшиков М.Ю., Парфенова Е.В. Роль противовоспалительного цитокина ИЛ-4 в инсулиновой чувствительности жировой ткани // Сборник тезисов конференции по лечению и диагностике сахарного диабета «Фундаментальная и клиническая диабетология в 21 веке: от теории к практике». 2022. P. 81.

10. Michurina S.S., Stafeev I.S., Mamontova E.D., Menshikov M.Y., Parfyonova Y.V. Developing of glucose-consuming adipocytes by interleukin 4 gene // Human Gene Therapy. 2021. V. 32. № 19-20. P. 390.

11. Michurina S., Stafeev I., Arfanyan A., Beloglazova I., Shevchenko E., Menshikov M., Parfyonova Y. The role of IL-4/STAT6 signaling in regulation of adipocytes glucose metabolism // Diabetologia. 2020. V. 63. P. S221–S221.

12. Stafeev I.S., Michurina S.S., Molokotina Y.D., Beloglazova I.B., Zubkova E.S., Shevchenko E.K., Vorotnikov A.V., Menshikov M.Y., Parfyonova Ye V. IL-4 gene lentiviral transduction to mature adipocytes has positive long-term effects on their insulin sensitivity, but these effects are not mediated by STAT6 // Endocrine Practice. V. 25. 2019. P. 8A–8A.

13. Michurina S., Stafeev I., Beloglazova I., Molokotina Y., Shevchenko E., Vorotnikov A., Menshikov M., Parfyonova Ye. Lentiviral transfer of interleukin 4 gene to 3T3-L1 adipocytes prevents development of lipid-induced insulin resistance // European Heart Journal. 2018. V. 39. P. 492.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зубкова Е.С., Дергилев К.В., Гусева А.А., Ратнер Е.И., Меньшиков М.Ю., Парфенова Е.В. Секреторная активность мезенхимальных клеток эпикарда и жировой ткани в условиях провоспалительного и противовоспалительного микроокружения // Кардиологический вестник. 2022. V. 17. № 4. P. 38–45.

2. Стафеев Ю.С. Воздействие на воспалительный статус адипоцитов как подход к регуляции их чувствительности к инсулину : дис. ... канд. биол. наук : 03.01.04 / Стафеев Юрий Сергеевич. М., 2019. 155 с.

3. Abel E.D., Peroni O., Kim J.K., Kim Y.B., Boss O., Hadro E., Minnemann T., Shulman G.I., Kahn B.B. Adipose-selective targeting of the GLUT4 gene impairs insulin action in muscle and liver. // Nature. 2001. V. 409. № 6821. P. 729–733.

4. Ajoolabady A., Lebeaupin C., Wu N.N., Kaufman R.J., Ren J. ER stress and inflammation crosstalk in obesity // Med. Res. Rev. 2023. V. 43. № 1. P. 5–30.

5. Alexaki V.I., Chavakis T. The role of innate immunity in the regulation of brown and beige adipogenesis. // Rev. Endocr. Metab. Disord. 2016. V. 17. № 1. P. 41–49.

6. Antohe J.L., Bili A., Sartorius J.A., Kirchner H.L., Morris S.J., Dancea S., Wasko M.C.M. Diabetes mellitus risk in rheumatoid arthritis: reduced incidence with anti-tumor necrosis factor α therapy // Arthritis Care Res. 2012. V. 64. № 2. P. 215–221.

7. Arkan M.C., Hevener A.L., Greten F.R., Maeda S., Li Z.-W., Long J.M., Wynshaw-Boris A., Poli G., Olefsky J., Karin M. IKK-beta links inflammation to obesity-induced insulin resistance // Nat. Med. 2005. V. 11. № 2. P. 191–198.

8. Asseldonk E.J.P. van, Stienstra R., Koenen T.B., Joosten L.A.B., Netea M.G., Tack C.J. Treatment with Anakinra Improves Disposition Index But Not Insulin Sensitivity in Nondiabetic Subjects with the Metabolic Syndrome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2011. V. 96. № 7. P. 2119–2126.

9. Austin R.L., Rune A., Bouzakri K., Zierath J.R., Krook A. siRNA-Mediated Reduction of Inhibitor of Nuclear Factor-κB Kinase Prevents Tumor Necrosis Factor-α–Induced

Insulin Resistance in Human Skeletal Muscle // Diabetes. 2008. V. 57. № 8. P. 2066–2073.

10. Baat A. de, Trinh B., Ellingsgaard H., Donath M.Y. Physiological role of cytokines in the regulation of mammalian metabolism // Trends Immunol. 2023. V. 44. № 8. P. 613–627.

11. Backer J.M., Myers M.G., Shoelson S.E., Chin D.J., Sun X.J., Miralpeix M., Hu P., Margolis B., Skolnik E.Y., Schlessinger J. Phosphatidylinositol 3’-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. // EMBO J. 1992. V. 11. № 9. P. 3469–3479.

12. Baraille F., Planchais J., Dentin R., Guilmeau S., Postic C. Integration of ChREBP-Mediated Glucose Sensing into Whole Body Metabolism // Physiology. 2015. V. 30. № 6. P. 428–437.

13. Bardova K., Funda J., Pohl R., Cajka T., Hensler M., Kuda O., Janovska P., Adamcova K., Irodenko I., Lenkova L., Zouhar P., Horakova O., Flachs P., Rossmeisl M., Colca J., Kopecky J. Additive Effects of Omega-3 Fatty Acids and Thiazolidinediones in Mice Fed a High-Fat Diet: Triacylglycerol/Fatty Acid Cycling in Adipose Tissue // Nutrients. 2020. V. 12. № 12. P. 3737.

14. Beisswenger P.J., Howell S.K., Smith K., Szwergold B.S. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity as an independent modifier of methylglyoxal levels in diabetes // Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis. 2003. V. 1637. № 1. P. 98–106.

15. Benador I.Y., Veliova M., Mahdaviani K., Petcherski A., Wikstrom J.D., Assali E., Acín-Peréz R., Shum M., Oliveira M.F., Cinti S., Sztalryd C., Barshop W.D., Wohlschlegel J.A., Corkey B.E., Liesa M., Shirihai O.S. Mitochondria Bound to Lipid Droplets Have Unique Bioenergetics, Composition, and Dynamics That Support Lipid Droplet Expansion // Cell Metab. 2018. V. 27. № 4. P. 869- 885.e6.

16. Besse-Patin A., Jeromson S., Levesque-Damphousse P., Secco B., Laplante M., Estall J.L. PGC1A regulates the IRS1:IRS2 ratio during fasting to influence hepatic metabolism downstream of insulin // Proc. Natl. Acad. Sci. 2019. V. 116. № 10. P. 4285–4290.

17. Bianco A.C., Dumitrescu A., Gereben B., Ribeiro M.O., Fonseca T.L., Fernandes G.W., Bocco B.M.L.C. Paradigms of Dynamic Control of Thyroid Hormone Signaling // Endocr. Rev. 2019. V. 40. № 4. P. 1000–1047.

18. Blondin D.P., Nielsen S., Kuipers E.N., Severinsen M.C., Jensen V.H., Miard S., Jespersen N.Z., Kooijman S., Boon M.R., Fortin M., Phoenix S., Frisch F., Guérin B., Turcotte É.E., Haman F., Richard D., Picard F., Rensen P.C.N., Scheele C., et al. Human Brown Adipocyte Thermogenesis Is Driven by β2-AR Stimulation // Cell Metab. 2020. V. 32. № 2. P. 287- 300.e7.

19. Bluemel S., Wang Y., Lee S., Schnabl B. Tumor necrosis factor alpha receptor 1 deficiency in hepatocytes does not protect from non-alcoholic steatohepatitis, but attenuates insulin resistance in mice // World J. Gastroenterol. 2020. V. 26. № 33. P. 4933–4944.

20. Blüher M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. // Nat. Rev. Endocrinol. 2019. V. 15. № 5. P. 288–298.

21. Boden G., Merali S. Measurement of the increase in endoplasmic reticulum stress-related proteins and genes in adipose tissue of obese, insulin-resistant individuals // Methods Enzymol. 2011. V. 489. P. 67–82.

22. Brejchova K., Radner F.P.W., Balas L., Paluchova V., Cajka T., Chodounska H., Kudova E., Schratter M., Schreiber R., Durand T., Zechner R., Kuda O. Distinct roles of adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase in the catabolism of triacylglycerol estolides // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2021. V. 118. № 2. P. e2020999118.

23. Brestoff J.R., Artis D. Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease. // Cell. 2015. V. 161. № 1. P. 146–160.

24. Brown A.K., Webb A.E. Regulation of FOXO Factors in Mammalian Cells // Curr. Top. Dev. Biol. 2018. V. 127. P. 165–192.

25. Cadoudal T., Blouin J.M., Collinet M., Fouque F., Tan G.D., Loizon E., Beale E.G., Frayn K.N., Karpe F., Vidal H., Benelli C., Forest C. Acute and selective regulation of glyceroneogenesis and cytosolic phosphoenolpyruvate carboxykinase in adipose tissue by thiazolidinediones in type 2 diabetes // Diabetologia. 2007. V. 50. № 3. P. 666–675.

26. Calderon-Dominguez M., Sebastián D., Fucho R., Weber M., Mir J.F., García-Casarrubios E., Obregón M.J., Zorzano A., Valverde Á.M., Serra D., Herrero L. Carnitine Palmitoyltransferase 1 Increases Lipolysis, UCP1 Protein Expression and Mitochondrial Activity in Brown Adipocytes // PLoS ONE. 2016. V. 11. № 7. P. e0159399.

27. Calejman C.M., Doxsey W.G., Fazakerley D.J., Guertin D.A. Integrating adipocyte insulin signaling and metabolism in the multi-omics era // Trends Biochem. Sci. 2022. V. 47. № 6. P. 531–546.

28. Cannon B., Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance // Physiol. Rev. 2004. V. 84. № 1. P. 277–359.

29. Cao H., Gerhold K., Mayers J.R., Wiest M.M., Watkins S.M., Hotamisligil G.S. Identification of a Lipokine, a Lipid Hormone Linking Adipose Tissue to Systemic Metabolism // Cell. 2008. V. 134. № 6. P. 933–944.

30. Carey A.L., Steinberg G.R., Macaulay S.L., Thomas W.G., Holmes A.G., Ramm G., Prelovsek O., Hohnen-Behrens C., Watt M.J., James D.E., Kemp B.E., Pedersen B.K., Febbraio M.A. Interleukin-6 increases insulin-stimulated glucose disposal in humans and glucose uptake and fatty acid oxidation in vitro via AMP-activated protein kinase // Diabetes. 2006. V. 55. № 10. P. 2688–2697.

31. Carper D., Coué M., Nascimento E.B.M., Barquissau V., Lagarde D., Pestourie C., Laurens C., Petit J.V., Soty M., Monbrun L., Marques M.-A., Jeanson Y., Sainte-Marie Y., Mairal A., Déjean S., Tavernier G., Viguerie N., Bourlier V., Lezoualc’h F., et al. Atrial Natriuretic Peptide Orchestrates a Coordinated Physiological Response to Fuel Non-shivering Thermogenesis // Cell Rep. 2020. V. 32. № 8. P. 108075.

32. Cavelti-Weder C., Babians-Brunner A., Keller C., Stahel M.A., Kurz-Levin M., Zayed H., Solinger A.M., Mandrup-Poulsen T., Dinarello C.A., Donath M.Y. Effects of gevokizumab on glycemia and inflammatory markers in type 2 diabetes // Diabetes Care. 2012. V. 35. № 8. P. 1654–1662.

33. Cawthorn W.P., Heyd F., Hegyi K., Sethi J.K. Tumour necrosis factor-alpha inhibits adipogenesis via a beta-catenin/TCF4(TCF7L2)-dependent pathway // Cell Death Differ. 2007. V. 14. № 7. P. 1361–1373.

34. Cawthorn W.P., Sethi J.K. TNF-alpha and adipocyte biology // FEBS Lett. 2008. V. 582. № 1. P. 117–131.

35. Chadt A., Al-Hasani H. Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease // Pflüg. Arch. - Eur. J. Physiol. 2020. V. 472. № 9. P. 1273–1298.

36. Chan S.M.H., Sun R.-Q., Zeng X.-Y., Choong Z.-H., Wang H., Watt M.J., Ye J.-M. Activation of PPARα Ameliorates Hepatic Insulin Resistance and Steatosis in High Fructose–Fed Mice Despite Increased Endoplasmic Reticulum Stress // Diabetes. 2013. V. 62. № 6. P. 2095–2105.

37. Chang Y.-H., Ho K.-T., Lu S.-H., Huang C.-N., Shiau M.-Y. Regulation of glucose/lipid metabolism and insulin sensitivity by interleukin-4 // Int. J. Obes. 2005. 2012a. V. 36. № 7. P. 993–998.

38. Chang Y.-H., Tsai J.-N., Chen T.-L., Ho K.-T., Cheng H.-Y., Hsiao C.-W., Shiau M.-Y. Interleukin-4 Promotes Myogenesis and Boosts Myocyte Insulin Efficacy // Mediators Inflamm. 2019. V. 2019. P. 4182015.

39. Chang Y.-H., Huang C.-N., Shiau M.-Y. Association of IL-4 receptor gene polymorphisms with high density lipoprotein cholesterol // Cytokine. 2012b. V. 59. № 2. P. 309–312.

40. Chavakis T. Immunometabolism: Where Immunology and Metabolism Meet // J. Innate Immun. 2021. V. 14. № 1. P. 1–3.

41. Chen F.-J., Yin Y., Chua B.T., Li P. CIDE family proteins control lipid homeostasis and the development of metabolic diseases // Traffic Cph. Den. 2020. V. 21. № 1. P. 94–105.

42. Chen L., Jin Y., Wu J., Ren Z. Lipid Droplets: A Cellular Organelle Vital for Thermogenesis // Int. J. Biol. Sci. 2022. V. 18. № 16. P. 6176–6188.

43. Chen Y.-J., Mahieu N.G., Huang X., Singh M., Crawford P.A., Johnson S.L., Gross R.W., Schaefer J., Patti G.J. Lactate metabolism is associated with mammalian mitochondria // Nat. Chem. Biol. 2016. V. 12. № 11. P. 937–943.

44. Chiang S.-H., Bazuine M., Lumeng C.N., Geletka L.M., Mowers J., White N.M., Ma J.-T., Zhou J., Qi N., Westcott D., Delproposto J.B., Blackwell T.S., Yull F.E., Saltiel A.R. The protein kinase IKKε regulates energy expenditure, insulin sensitivity and chronic inflammation in obese mice // Cell. 2009. V. 138. № 5. P. 961–975.

45. Chmelar J., Chung K.-J., Chavakis T. The role of innate immune cells in obese adipose tissue inflammation and development of insulin resistance. // Thromb. Haemost. 2013. V. 109. № 3. P. 399–406.

46. Cho Y.S., Chen C.-H., Hu C., Long J., Ong R.T.H., Sim X., Takeuchi F., Wu Y., Go M.J., Yamauchi T., Chang Y.-C., Kwak S.H., Ma R.C.W., Yamamoto K., Adair L.S., Aung T., Cai Q., Chang L.-C., Chen Y.-T., et al. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies eight new loci for type 2 diabetes in east Asians. // Nat. Genet. 2011. V. 44. № 1. P. 67–72.

47. Choi E.W., Lee M., Song J.W., Kim K., Lee J., Yang J., Lee S.H., Kim I.Y., Choi J.-H., Seong J.K. Fas mutation reduces obesity by increasing IL-4 and IL-10 expression and promoting white adipose tissue browning // Sci. Rep. 2020. V. 10. № 1. P. 12001.

48. Chondronikola M., Volpi E., Børsheim E., Porter C., Saraf M.K., Annamalai P., Yfanti C., Chao T., Wong D., Shinoda K., Labbė S.M., Hurren N.M., Cesani F., Kajimura S., Sidossis L.S. Brown Adipose Tissue Activation Is Linked to Distinct Systemic Effects on Lipid Metabolism in Humans // Cell Metab. 2016. V. 23. № 6. P. 1200–1206.

49. Chouchani E.T., Kazak L., Spiegelman B.M. New Advances in Adaptive Thermogenesis: UCP1 and Beyond // Cell Metab. 2019. V. 29. № 1. P. 27–37.

50. Christoffolete M.A., Linardi C.C.G., Jesus L. de, Ebina K.N., Carvalho S.D., Ribeiro M.O., Rabelo R., Curcio C., Martins L., Kimura E.T., Bianco A.C. Mice with Targeted Disruption of the Dio2 Gene Have Cold-Induced Overexpression of the Uncoupling Protein 1 Gene but Fail to Increase Brown Adipose Tissue Lipogenesis and Adaptive Thermogenesis // Diabetes. 2004. V. 53. № 3. P. 577–584.

51. Chung K.-J., Nati M., Chavakis T., Chatzigeorgiou A. Innate immune cells in the adipose tissue. // Rev. Endocr. Metab. Disord. 2018. V. 19. № 4. P. 283–292.

52. Cogliati S., Cabrera-Alarcón J.L., Enriquez J.A. Regulation and functional role of the electron transport chain supercomplexes // Biochem. Soc. Trans. 2021. V. 49. № 6. P. 2655–2668.

53. Copps K.D., White M.F. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2 // Diabetologia. 2012. V. 55. № 10. P. 2565–2582.

54. Cramer T., Yamanishi Y., Clausen B.E., Förster I., Pawlinski R., Mackman N., Haase V.H., Jaenisch R., Corr M., Nizet V., Firestein G.S., Gerber H.-P., Ferrara N., Johnson R.S. HIF-1α Is Essential for Myeloid Cell-Mediated Inflammation // Cell. 2003. V. 112. № 5. P. 645–657.

55. Czech M.P., Tencerova M., Pedersen D.J., Aouadi M. Insulin signalling mechanisms for triacylglycerol storage // Diabetologia. 2013. V. 56. № 5. P. 949–964.

56. Daemen S., Schilling J.D. The Interplay Between Tissue Niche and Macrophage Cellular Metabolism in Obesity // Front. Immunol. 2019. V. 10. P. 3133.

57. Dallner O.S., Chernogubova E., Brolinson K.A., Bengtsson T. Beta3-adrenergic receptors stimulate glucose uptake in brown adipocytes by two mechanisms independently of glucose transporter 4 translocation // Endocrinology. 2006. V. 147. № 12. P. 5730–5739.

58. Davis C.D. The Gut Microbiome and Its Role in Obesity // Nutr. Today. 2016. V. 51. № 4. P. 167–174.

59. Davis J.E., Gabler N.K., Walker-Daniels J., Spurlock M.E. Tlr-4 deficiency selectively protects against obesity induced by diets high in saturated fat // Obes. Silver Spring Md. 2008. V. 16. № 6. P. 1248–1255.

60. Deckers J., Anbergen T., Hokke A.M., Dreu A. de, Schrijver D.P., Bruin K. de, Toner Y.C., Beldman T.J., Spangler J.B., Greef T.F.A. de, Grisoni F., Meel R. van der, Joosten L.A.B., Merkx M., Netea M.G., Mulder W.J.M. Engineering cytokine therapeutics // Nat. Rev. Bioeng. 2023. V. 1. № 4. P. 286–303.

61. DeFronzo R.A., Tripathy D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. // Diabetes Care. 2009. V. 32 Suppl 2. № Suppl 2. P. S157-163.

62. Díaz-Delfín J., Hondares E., Iglesias R., Giralt M., Caelles C., Villarroya F. TNF-α represses β-Klotho expression and impairs FGF21 action in adipose cells: involvement of JNK1 in the FGF21 pathway // Endocrinology. 2012. V. 153. № 9. P. 4238–4245.

63. Diedisheim M., Carcarino E., Vandiedonck C., Roussel R., Gautier J.-F., Venteclef N. Regulation of inflammation in diabetes: From genetics to epigenomics evidence // Mol. Metab. 2020. V. 41. P. 101041.

64. DiGirolamo M., Newby F.D., Lovejoy J. Lactate production in adipose tissue: a regulated function with extra-adipose implications // FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 1992. V. 6. № 7. P. 2405–2412.

65. Duranti S., Ferrario C., Sinderen D. van, Ventura M., Turroni F. Obesity and microbiota: an example of an intricate relationship // Genes Nutr. 2017. V. 12. P. 18.

66. Ebstein W. Zur therapie des Diabetes mellitus, insbesondere über die Anwendung des salicylsauren Natron bei demselben // Berliner Klinische Wochenschrift. 1876. V. 13. P. 337–340.

67. Eckstein S.S., Weigert C., Lehmann R. Divergent Roles of IRS (Insulin Receptor Substrate) 1 and 2 in Liver and Skeletal Muscle // Curr. Med. Chem. 2017. V. 24. № 17.

68. Eguchi K., Manabe I., Oishi-Tanaka Y., Ohsugi M., Kono N., Ogata F., Yagi N., Ohto U., Kimoto M., Miyake K., Tobe K., Arai H., Kadowaki T., Nagai R. Saturated fatty acid and TLR signaling link β cell dysfunction and islet inflammation // Cell Metab. 2012. V. 15. № 4. P. 518–533.

69. Elia M., Zed C., Neale G., Livesey G. The energy cost of triglyceride-fatty acid recycling in nonobese subjects after an overnight fast and four days of starvation // Metabolism. 1987. V. 36. № 3. P. 251–255.

70. Ellulu M.S., Patimah I., Khaza'ai H., Rahmat A., Abed Y. Obesity and inflammation: the linking mechanism and the complications // Arch. Med. Sci. AMS. 2017. V. 13. № 4. P. 851–863.

71. Engin A.B. Adipocyte-Macrophage Cross-Talk in Obesity // Obesity and Lipotoxicity Advances in Experimental Medicine and Biology. / под ред. A.B. Engin, A. Engin. Cham: Springer International Publishing, 2017. P. 327–343.

72. Evans J.L., Goldfine I.D., Maddux B.A., Grodsky G.M. Are Oxidative Stress−Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β-Cell Dysfunction? // Diabetes. 2003. V. 52. № 1. P. 1–8.

73. Everett B.M., Donath M.Y., Pradhan A.D., Thuren T., Pais P., Nicolau J.C., Glynn R.J., Libby P., Ridker P.M. Anti-Inflammatory Therapy With Canakinumab for the Prevention and Management of Diabetes // J. Am. Coll. Cardiol. 2018. V. 71. № 21. P. 2392–2401.

74. Exner T., Beretta C.A., Gao Q., Afting C., Romero-Brey I., Bartenschlager R., Fehring L., Poppelreuther M., Füllekrug J. Lipid droplet quantification based on iterative image processing // J. Lipid Res. 2019. V. 60. № 7. P. 1333–1344.

75. Fabbrini E., Cella M., Mccartney S.A., Fuchs A., Abumrad N.A., Pietka T.A., Chen Z., Finck B.N., Han D.H., Magkos F., Conte C., Bradley D., Fraterrigo G., Eagon J.C., Patterson B.W., Colonna M., Klein S. Association Between Specific Adipose Tissue CD4+ T-Cell Populations and Insulin Resistance in Obese Individuals // Gastroenterology. 2013. V. 145. № 2. P. 366- 374.e3.

76. Faghihimani E., Aminorroaya A., Rezvanian H., Adibi P., Ismail-Beigi F., Amini M. Salsalate improves glycemic control in patients with newly diagnosed type 2 diabetes // Acta Diabetol. 2013. V. 50. № 4. P. 537–543.

77. Fazakerley D.J., Minard A.Y., Krycer J.R., Thomas K.C., Stöckli J., Harney D.J., Burchfield J.G., Maghzal G.J., Caldwell S.T., Hartley R.C., Stocker R., Murphy M.P., James D.E. Mitochondrial oxidative stress causes insulin resistance without disrupting oxidative phosphorylation // J. Biol. Chem. 2018. V. 293. № 19. P. 7315–7328.

78. Fedorenko A., Lishko P.V., Kirichok Y. Mechanism of Fatty-Acid-Dependent UCP1 Uncoupling in Brown Fat Mitochondria // Cell. 2012. V. 151. № 2. P. 400–413.

79. Feng J., Lu S., Ou B., Liu Q., Dai J., Ji C., Zhou H., Huang H., Ma Y. The Role of JNk Signaling Pathway in Obesity-Driven Insulin Resistance // Diabetes Metab. Syndr. Obes. Targets Ther. 2020. V. 13. P. 1399–1406.

80. Feuerer M., Herrero L., Cipolletta D., Naaz A., Wong J., Nayer A., Lee J., Goldfine A.B., Benoist C., Shoelson S., Mathis D. Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters // Nat. Med. 2009. V. 15. № 8. P. 930–939.

81. Fiory F., Mirra P., Nigro C., Pignalosa F.C., Zatterale F., Ulianich L., Prevete N., Formisano P., Beguinot F., Miele C. Role of the HIF-1α/Nur77 axis in the regulation of the tyrosine hydroxylase expression by insulin in PC12 cells // J. Cell. Physiol. 2019. V. 234. № 7. P. 11861–11870.

82. Fischer K., Ruiz H.H., Jhun K., Finan B., Oberlin D.J., Van Der Heide V., Kalinovich A.V., Petrovic N., Wolf Y., Clemmensen C., Shin A.C., Divanovic S., Brombacher F., Glasmacher E., Keipert S., Jastroch M., Nagler J., Schramm K.-W., Medrikova D., et al. Alternatively activated macrophages do not synthesize catecholamines or contribute to adipose tissue adaptive thermogenesis // Nat. Med. 2017. V. 23. № 5. P. 623–630.

83. Flachs P., Adamcova K., Zouhar P., Marques C., Janovska P., Viegas I., Jones J.G., Bardova K., Svobodova M., Hansikova J., Kuda O., Rossmeisl M., Liisberg U., Borkowska A.G., Kristiansen K., Madsen L., Kopecky J. Induction of lipogenesis in

white fat during cold exposure in mice: link to lean phenotype // Int. J. Obes. 2005. 2017. V. 41. № 3. P. 372–380.

84. Flannick J., Mercader J.M., Fuchsberger C., Udler M.S., Mahajan A., Wessel J., Teslovich T.M., Caulkins L., Koesterer R., Barajas-Olmos F., Blackwell T.W., Boerwinkle E., Brody J.A., Centeno-Cruz F., Chen L., Chen S., Contreras-Cubas C., Córdova E., Correa A., et al. Exome sequencing of 20,791 cases of type 2 diabetes and 24,440 controls. // Nature. 2019. V. 570. № 7759. P. 71–76.

85. Foley J.E., Laursen A.L., Sonne O., Gliemann J. Insulin binding and hexose transport in rat adipocytes. Relation to cell size // Diabetologia. 1980. V. 19. № 3. P. 234–241.

86. Forest C., Tordjman J., Glorian M., Duplus E., Chauvet G., Quette J., Beale E.G., Antoine B. Fatty acid recycling in adipocytes: a role for glyceroneogenesis and phosphoenolpyruvate carboxykinase // Biochem. Soc. Trans. 2003. V. 31. № Pt 6. P. 1125–1129.

87. Francendese A.A., Digirolamo M. Alternative substrates for triacylglycerol synthesis in isolated adipocytes of different size from the rat // Biochem. J. 1981. V. 194. № 2. P. 377–384.

88. Franckhauser S., Elias I., Rotter Sopasakis V., Ferré T., Nagaev I., Andersson C.X., Agudo J., Ruberte J., Bosch F., Smith U. Overexpression of Il6 leads to hyperinsulinaemia, liver inflammation and reduced body weight in mice // Diabetologia. 2008. V. 51. № 7. P. 1306–1316.

89. Frühbeck G., Méndez-Giménez L., Fernández-Formoso J.-A., Fernández S., Rodríguez A. Regulation of adipocyte lipolysis // Nutr. Res. Rev. 2014. V. 27. № 1. P. 63–93.

90. Gadani S.P., Cronk J.C., Norris G.T., Kipnis J. IL-4 in the brain: a cytokine to remember // J. Immunol. Baltim. Md 1950. 2012. V. 189. № 9. P. 4213–4219.

91. Gallardo-Montejano V.I., Yang C., Hahner L., McAfee J.L., Johnson J.A., Holland W.L., Fernandez-Valdivia R., Bickel P.E. Perilipin 5 links mitochondrial uncoupled

respiration in brown fat to healthy white fat remodeling and systemic glucose tolerance // Nat. Commun. 2021. V. 12. № 1. P. 3320.

92. Gandhi H., Worch R., Kurgonaite K., Hintersteiner M., Schwille P., Bökel C., Weidemann T. Dynamics and interaction of interleukin-4 receptor subunits in living cells // Biophys. J. 2014. V. 107. № 11. P. 2515–2527.

93. Ghazarian M., Revelo X.S., Nøhr M.K., Luck H., Zeng K., Lei H., Tsai S., Schroer S.A., Park Y.J., Chng M.H.Y., Shen L., D'Angelo J.A., Horton P., Chapman W.C., Brockmeier D., Woo M., Engleman E.G., Adeyi O., Hirano N., et al. Type I interferon responses drive intrahepatic T cells to promote metabolic syndrome // Sci. Immunol. 2017. V. 2. № 10. P. eaai7616.

94. Goldfine A.B., Fonseca V., Jablonski K.A., Chen Y.-D.I., Tipton L., Staten M.A., Shoelson S.E., Targeting Inflammation Using Salsalate in Type 2 Diabetes Study Team. Salicylate (salsalate) in patients with type 2 diabetes: a randomized trial // Ann. Intern. Med. 2013. V. 159. № 1. P. 1–12.

95. Gonzalez-Gay M.A., De Matias J.M., Gonzalez-Juanatey C., Garcia-Porrua C., Sanchez-Andrade A., Martin J., Llorca J. Anti-tumor necrosis factor-alpha blockade improves insulin resistance in patients with rheumatoid arthritis // Clin. Exp. Rheumatol. 2006. V. 24. № 1. P. 83–86.

96. Gonzalez-Hurtado E., Lee J., Choi J., Wolfgang M.J. Fatty acid oxidation is required for active and quiescent brown adipose tissue maintenance and thermogenic programing // Mol. Metab. 2017. V. 7. P. 45–56.

97. Goto T., Naknukool S., Yoshitake R., Hanafusa Y., Tokiwa S., Li Y., Sakamoto T., Nitta T., Kim M., Takahashi N., Yu R., Daiyasu H., Seno S., Matsuda H., Kawada T. Proinflammatory cytokine interleukin-1β suppresses cold-induced thermogenesis in adipocytes // Cytokine. 2016. V. 77. P. 107–114.

98. Grabner G.F., Xie H., Schweiger M., Zechner R. Lipolysis: cellular mechanisms for lipid mobilization from fat stores // Nat. Metab. 2021. V. 3. № 11. P. 1445–1465.

99. Grant R.W., Stephens J.M. Fat in flames: influence of cytokines and pattern recognition receptors on adipocyte lipolysis // Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab. 2015. V. 309. № 3. P. E205–E213.

100. Greenberg A.S., Shen W.J., Muliro K., Patel S., Souza S.C., Roth R.A., Kraemer F.B. Stimulation of lipolysis and hormone-sensitive lipase via the extracellular signal-regulated kinase pathway // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. № 48. P. 45456–45461.

101. Gregor M.F., Yang L., Fabbrini E., Mohammed B.S., Eagon J.C., Hotamisligil G.S., Klein S. Endoplasmic reticulum stress is reduced in tissues of obese subjects after weight loss // Diabetes. 2009. V. 58. № 3. P. 693–700.

102. Grunt T.W., Slany A., Semkova M., Colomer R., López-Rodríguez M.L., Wuczkowski M., Wagner R., Gerner C., Stübiger G. Membrane disruption, but not metabolic rewiring, is the key mechanism of anticancer-action of FASN-inhibitors: a multi-omics analysis in ovarian cancer // Sci. Rep. 2020. V. 10. P. 14877.

103. Guilherme A., Virbasius J.V., Puri V., Czech M.P. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2008. V. 9. № 5. P. 367–377.

104. Guilherme A., Rowland L.A., Wang H., Czech M.P. The adipocyte supersystem of insulin and cAMP signaling // Trends Cell Biol. 2023. V. 33. № 4. P. 340–354.

105. Guney E., Arruda A.P., Parlakgul G., Cagampan E., Min N., Lee G.Y., Greene L., Tsaousidou E., Inouye K., Han M.S., Davis R.J., Hotamisligil G.S. Aberrant Ca2+ signaling by IP3Rs in adipocytes links inflammation to metabolic dysregulation in obesity // Sci. Signal. 2021. V. 14. № 713. P. eabf2059.

106. Hamer M., Gale C.R., Kivimäki M., Batty G.D. Overweight, obesity, and risk of hospitalization for COVID-19: A community-based cohort study of adults in the United Kingdom. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2020. V. 117. № 35. P. 21011–21013.

107. Han M.S., Jung D.Y., Morel C., Lakhani S.A., Kim J.K., Flavell R.A., Davis R.J. JNK expression by macrophages promotes obesity-induced insulin resistance and inflammation // Science. 2013. V. 339. № 6116. P. 218–222.

108. Hankir M.K., Klingenspor M. Brown adipocyte glucose metabolism: a heated subject // EMBO Rep. 2018. V. 19. № 9. P. e46404.

109. Hansen H., Wang T. Does the Saponification-GC Method Underestimate Total Cholesterol Content in Samples Having Considerable Cholesterol Esters? // J. Am. Oil Chem. Soc. 2015. V. 92. № 11. P. 1735–1738.

110. Harada N., Hirano I., Inui H., Yamaji R. Stereoselective effects of lactate enantiomers on the enhancement of 3T3-L1 adipocyte differentiation // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2018. V. 498. № 1. P. 105–110.

111. Hashimoto T., Segawa H., Okuno M., Kano H., Hamaguchi H., Haraguchi T., Hiraoka Y., Hasui S., Yamaguchi T., Hirose F., Osumi T. Active involvement of micro-lipid droplets and lipid-droplet-associated proteins in hormone-stimulated lipolysis in adipocytes // J. Cell Sci. 2012. V. 125. № Pt 24. P. 6127–6136.

112. Håversen L., Danielsson K.N., Fogelstrand L., Wiklund O. Induction of proinflammatory cytokines by long-chain saturated fatty acids in human macrophages // Atherosclerosis. 2009. V. 202. № 2. P. 382–393.

113. Heller N.M., Qi X., Junttila I.S., Shirey K.A., Vogel S.N., Paul W.E., Keegan A.D. Type I IL-4Rs selectively activate IRS-2 to induce target gene expression in macrophages // Sci. Signal. 2008. V. 1. № 51. P. ra17.

114. Herman M.A., Peroni O.D., Villoria J., Schön M.R., Abumrad N.A., Blüher M., Klein S., Kahn B.B. A novel ChREBP isoform in adipose tissue regulates systemic glucose metabolism. // Nature. 2012. V. 484. № 7394. P. 333–338.

115. Hers I., Vincent E.E., Tavaré J.M. Akt signalling in health and disease // Cell. Signal. 2011. V. 23. № 10. P. 1515–1527.

116. Hersoug L.-G., Møller P., Loft S. Role of microbiota-derived lipopolysaccharide in adipose tissue inflammation, adipocyte size and pyroptosis during obesity // Nutr. Res. Rev. 2018. V. 31. № 2. P. 153–163.

117. Hill D.A., Lim H.-W., Kim Y.H., Ho W.Y., Foong Y.H., Nelson V.L., Nguyen H.C.B., Chegireddy K., Kim J., Habertheuer A., Vallabhajosyula P., Kambayashi T., Won K.-J., Lazar M.A. Distinct macrophage populations direct inflammatory versus physiological changes in adipose tissue // Proc. Natl. Acad. Sci. 2018. V. 115. № 22. P. E5096–E5105.

118. Hirosumi J., Tuncman G., Chang L., Görgün C.Z., Uysal K.T., Maeda K., Karin M., Hotamisligil G.S. A central role for JNK in obesity and insulin resistance // Nature. 2002. V. 420. № 6913. P. 333–336.

119. Hock M.B., Kralli A. Transcriptional Control of Mitochondrial Biogenesis and Function // Annu. Rev. Physiol. 2009. V. 71. № 1. P. 177–203.

120. Hodson L., Humphreys S.M., Karpe F., Frayn K.N. Metabolic signatures of human adipose tissue hypoxia in obesity // Diabetes. 2013. V. 62. № 5. P. 1417–1425.

121. Hosogai N., Fukuhara A., Oshima K., Miyata Y., Tanaka S., Segawa K., Furukawa S., Tochino Y., Komuro R., Matsuda M., Shimomura I. Adipose Tissue Hypoxia in Obesity and Its Impact on Adipocytokine Dysregulation // Diabetes. 2007. V. 56. № 4. P. 901–911.

122. Hotamisligil G.S., Budavari A., Murray D., Spiegelman B.M. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha // J. Clin. Invest. 1994. V. 94. № 4. P. 1543–1549.

123. Hotamisligil G.S. Foundations of Immunometabolism and Implications for Metabolic Health and Disease // Immunity. 2017. V. 47. № 3. P. 406–420.

124. Houstis N., Rosen E.D., Lander E.S. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance // Nature. 2006. V. 440. № 7086. P. 944–948.

125. Hui S., Cowan A.J., Zeng X., Yang L., TeSlaa T., Li X., Bartman C., Zhang Z., Jang C., Wang L., Lu W., Rojas J., Baur J., Rabinowitz J.D. Quantitative Fluxomics of Circulating Metabolites // Cell Metab. 2020. V. 32. № 4. P. 676- 688.e4.

126. Hurrle S., Hsu W.H. The etiology of oxidative stress in insulin resistance // Biomed. J. 2017. V. 40. № 5. P. 257–262.

127. Iizuka K., Bruick R.K., Liang G., Horton J.D., Uyeda K. Deficiency of carbohydrate response element-binding protein (ChREBP) reduces lipogenesis as well as glycolysis // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2004. V. 101. № 19. P. 7281–7286.

128. Ikemura M., Nishikawa M., Hyoudou K., Kobayashi Y., Yamashita F., Hashida M. Improvement of Insulin Resistance by Removal of Systemic Hydrogen Peroxide by PEGylated Catalase in Obese Mice // Mol. Pharm. 2010. V. 7. № 6. P. 2069–2076.

129. Ip W.K.E., Hoshi N., Shouval D.S., Snapper S., Medzhitov R. Anti-inflammatory effect of IL-10 mediated by metabolic reprogramming of macrophages // Science. 2017. V. 356. № 6337. P. 513–519.

130. Ivashkiv L.B. IFNγ: signalling, epigenetics and roles in immunity, metabolism, disease and cancer immunotherapy // Nat. Rev. Immunol. 2018. V. 18. № 9. P. 545–558.

131. Iwakami S., Misu H., Takeda T., Sugimori M., Matsugo S., Kaneko S., Takamura T. Concentration-dependent Dual Effects of Hydrogen Peroxide on Insulin Signal Transduction in H4IIEC Hepatocytes // PLOS ONE. 2011. V. 6. № 11. P. e27401.

132. Jenkins C.M., Mancuso D.J., Yan W., Sims H.F., Gibson B., Gross R.W. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities // J. Biol. Chem. 2004. V. 279. № 47. P. 48968–48975.

133. Jiang C., Qu A., Matsubara T., Chanturiya T., Jou W., Gavrilova O., Shah Y.M., Gonzalez F.J. Disruption of hypoxia-inducible factor 1 in adipocytes improves insulin sensitivity and decreases adiposity in high-fat diet-fed mice // Diabetes. 2011. V. 60. № 10. P. 2484–2495.

134. Jiao P., Ma J., Feng B., Zhang H., Diehl J.A., Chin Y.E., Yan W., Xu H. FFA-induced adipocyte inflammation and insulin resistance: involvement of ER stress and IKKβ pathways // Obes. Silver Spring Md. 2011. V. 19. № 3. P. 483–491.

135. Jun I., Kim B.-R., Park S.Y., Lee H., Kim J., Kim E.K., Seo K.Y., Kim T. Interleukin-4 stimulates lipogenesis in meibocytes by activating the STAT6/PPARγ signaling pathway // Ocul. Surf. 2020. V. 18. № 4. P. 575–582.

136. Jung S.M., Hung C.-M., Hildebrand S.R., Sanchez-Gurmaches J., Martinez-Pastor B., Gengatharan J.M., Wallace M., Mukhopadhyay D., Martinez Calejman C., Luciano A.K., Hsiao W.-Y., Tang Y., Li H., Daniels D.L., Mostoslavsky R., Metallo C.M., Guertin D.A. Non-canonical mTORC2 Signaling Regulates Brown Adipocyte Lipid Catabolism through SIRT6-FoxO1 // Mol. Cell. 2019. V. 75. № 4. P. 807- 822.e8.

137. Junttila I.S., Mizukami K., Dickensheets H., Meier-Schellersheim M., Yamane H., Donnelly R.P., Paul W.E. Tuning sensitivity to IL-4 and IL-13: differential expression of IL-4Ralpha, IL-13Ralpha1, and gammac regulates relative cytokine sensitivity // J. Exp. Med. 2008. V. 205. № 11. P. 2595–2608.

138. Junttila I.S. Tuning the Cytokine Responses: An Update on Interleukin (IL)-4 and IL-13 Receptor Complexes // Front. Immunol. 2018. V. 9.

139. Kälin S., Becker M., Ott V.B., Serr I., Hosp F., Mollah M.M.H., Keipert S., Lamp D., Rohner-Jeanrenaud F., Flynn V.K., Scherm M.G., Nascimento L.F.R., Gerlach K., Popp V., Dietzen S., Bopp T., Krishnamurthy P., Kaplan M.H., Serrano M., et al. A Stat6/Pten Axis Links Regulatory T Cells with Adipose Tissue Function // Cell Metab. 2017. V. 26. № 3. P. 475- 492.e7.

140. Kammoun H.L., Kraakman M.J., Febbraio M.A. Adipose tissue inflammation in glucose metabolism // Rev. Endocr. Metab. Disord. 2014. V. 15. № 1. P. 31–44.

141. Kang Y.E., Kim H.J., Shong M. Regulation of Systemic Glucose Homeostasis by T Helper Type 2 Cytokines // Diabetes Metab. J. 2019. V. 43. № 5. P. 549.

142. Karki S. FSP27 and Links to Obesity and Diabetes Mellitus // Curr. Obes. Rep. 2019. V. 8. № 3. P. 255–261.

143. Karlsson M., Contreras J.A., Hellman U., Tornqvist H., Holm C. cDNA cloning, tissue distribution, and identification of the catalytic triad of monoglyceride lipase.

Evolutionary relationship to esterases, lysophospholipases, and haloperoxidases // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. № 43. P. 27218–27223.

144. Katz J., Wals P.A. Lipogenesis from lactate in rat adipose tissue // Biochim. Biophys. Acta. 1974. V. 348. № 3. P. 344–356.

145. Kawasaki N., Asada R., Saito A., Kanemoto S., Imaizumi K. Obesity-induced endoplasmic reticulum stress causes chronic inflammation in adipose tissue // Sci. Rep. 2012. V. 2. P. 799.

146. Keegan A.D., Zamorano J., Keselman A., Heller N.M. IL-4 and IL-13 Receptor Signaling From 4PS to Insulin Receptor Substrate 2: There and Back Again, a Historical View // Front. Immunol. 2018. V. 9. P. 1037.

147. Kim F., Pham M., Luttrell I., Bannerman D.D., Tupper J., Thaler J., Hawn T.R., Raines E.W., Schwartz M.W. Toll-like receptor-4 mediates vascular inflammation and insulin resistance in diet-induced obesity // Circ. Res. 2007. V. 100. № 11. P. 1589–1596.

148. Kim M.J., Koo Y.D., Kim M., Lim S., Park Y.J., Chung S.S., Jang H.C., Park K.S. Rg3 Improves Mitochondrial Function and the Expression of Key Genes Involved in Mitochondrial Biogenesis in C2C12 Myotubes // Diabetes Metab. J. 2016. V. 40. № 5. P. 406.

149. Kimmel A.R., Sztalryd C. The Perilipins: Major Cytosolic Lipid Droplet-Associated Proteins and Their Roles in Cellular Lipid Storage, Mobilization, and Systemic Homeostasis // Annu. Rev. Nutr. 2016. V. 36. P. 471–509.

150. Könner A.C., Brüning J.C. Toll-like receptors: linking inflammation to metabolism // Trends Endocrinol. Metab. 2011. V. 22. № 1. P. 16–23.

151. Kooner J.S., Saleheen D., Sim X., Sehmi J., Zhang W., Frossard P., Been L.F., Chia K.-S., Dimas A.S., Hassanali N., Jafar T., Jowett J.B.M., Li X., Radha V., Rees S.D., Takeuchi F., Young R., Aung T., Basit A., et al. Genome-wide association study in individuals of South Asian ancestry identifies six new type 2 diabetes susceptibility loci. // Nat. Genet. 2011. V. 43. № 10. P. 984–989.

152. Kraegen E.W., Clark P.W., Jenkins A.B., Daley E.A., Chisholm D.J., Storlien L.H. Development of muscle insulin resistance after liver insulin resistance in high-fat-fed rats. // Diabetes. 1991. V. 40. № 11. P. 1397–1403.

153. Krycer J.R., Yugi K., Hirayama A., Fazakerley D.J., Quek L.-E., Scalzo R., Ohno S., Hodson M.P., Ikeda S., Shoji F., Suzuki K., Domanova W., Parker B.L., Nelson M.E., Humphrey S.J., Turner N., Hoehn K.L., Cooney G.J., Soga T., et al. Dynamic Metabolomics Reveals that Insulin Primes the Adipocyte for Glucose Metabolism // Cell Rep. 2017. V. 21. № 12. P. 3536–3547.

154. Krycer J.R., Quek L.-E., Francis D., Fazakerley D.J., Elkington S.D., Diaz-Vegas A., Cooke K.C., Weiss F.C., Duan X., Kurdyukov S., Zhou P.-X., Tambar U.K., Hirayama A., Ikeda S., Kamei Y., Soga T., Cooney G.J., James D.E. Lactate production is a prioritized feature of adipocyte metabolism // J. Biol. Chem. 2020. V. 295. № 1. P. 83–98.

155. Kwak H.J., Choi H.-E., Cheon H.G. 5-LO inhibition ameliorates palmitic acid-induced ER stress, oxidative stress and insulin resistance via AMPK activation in murine myotubes // Sci. Rep. 2017. V. 7. № 1. P. 5025.

156. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. V. 227. № 5259. P. 680–685.

157. Lagarde D., Jeanson Y., Barreau C., Moro C., Peyriga L., Cahoreau E., Guissard C., Arnaud E., Galinier A., Bouzier-Sore A.-K., Pellerin L., Chouchani E.T., Pénicaud L., Ader I., Portais J.-C., Casteilla L., Carrière A. Lactate fluxes mediated by the monocarboxylate transporter-1 are key determinants of the metabolic activity of beige adipocytes // J. Biol. Chem. 2021a. V. 296. P. 100137.

158. Lagarde D., Jeanson Y., Portais J.-C., Galinier A., Ader I., Casteilla L., Carrière A. Lactate Fluxes and Plasticity of Adipose Tissues: A Redox Perspective // Front. Physiol. 2021b. V. 12. P. 689747.

159. Lagathu C., Yvan-Charvet L., Bastard J.-P., Maachi M., Quignard-Boulangé A., Capeau J., Caron M. Long-term treatment with interleukin-1beta induces insulin

resistance in murine and human adipocytes // Diabetologia. 2006. V. 49. № 9. P. 2162–2173.

160. Lan T., Chen L., Wei X. Inflammatory Cytokines in Cancer: Comprehensive Understanding and Clinical Progress in Gene Therapy // Cells. 2021. V. 10. № 1. P. 100.

161. Lara-Guzmán O.J., Gil-Izquierdo Á., Medina S., Osorio E., Álvarez-Quintero R., Zuluaga N., Oger C., Galano J.-M., Durand T., Muñoz-Durango K. Oxidized LDL triggers changes in oxidative stress and inflammatory biomarkers in human macrophages // Redox Biol. 2018. V. 15. P. 1–11.

162. Lee A.H., Dixit V.D. Dietary Regulation of Immunity // Immunity. 2020. V. 53. № 3. P. 510–523.

163. Lee J., Ellis J.M., Wolfgang M.J. Adipose fatty acid oxidation is required for thermogenesis and potentiates oxidative stress induced inflammation // Cell Rep. 2015. V. 10. № 2. P. 266–279.

164. Lee K.Y., Gesta S., Boucher J., Wang X.L., Kahn C.R. The Differential Role of Hif1β/Arnt and the Hypoxic Response in Adipose Function, Fibrosis, and Inflammation // Cell Metab. 2011. V. 14. № 4. P. 491–503.

165. Lee S., Dong H.H. FoxO integration of insulin signaling with glucose and lipid metabolism // J. Endocrinol. 2017a. V. 233. № 2. P. R67–R79.

166. Lee S.E., Kang S.G., Choi M.J., Jung S.-B., Ryu M.J., Chung H.K., Chang J.Y., Kim Y.K., Lee J.H., Kim K.S., Kim H.J., Lee H.K., Yi H.-S., Shong M. Growth Differentiation Factor 15 Mediates Systemic Glucose Regulatory Action of T-Helper Type 2 Cytokines // Diabetes. 2017b. V. 66. № 11. P. 2774–2788.

167. Lee Y.S., Kim J., Osborne O., Oh D.Y., Sasik R., Schenk S., Chen A., Chung H., Murphy A., Watkins S.M., Quehenberger O., Johnson R.S., Olefsky J.M. Increased Adipocyte O2 Consumption Triggers HIF-1α, Causing Inflammation and Insulin Resistance in Obesity // Cell. 2014. V. 157. № 6. P. 1339–1352.

168. Lee Y.S., Olefsky J. Chronic tissue inflammation and metabolic disease // Genes Dev. 2021. V. 35. № 5–6. P. 307–328.

169. Li J.-L., Wang Q.-Y., Luan H.-Y., Kang Z.-C., Wang C.-B. Effects of L-carnitine against oxidative stress in human hepatocytes: involvement of peroxisome proliferator-activated receptor alpha // J. Biomed. Sci. 2012. V. 19. № 1. P. 32.

170. Liao Z., Wang Y., Qi X., Xiao X. JAZF1, a relevant metabolic regulator in type 2 diabetes // Diabetes Metab. Res. Rev. 2019. V. 35. № 5.

171. Lim C.-Y., Bi X., Wu D., Kim J.B., Gunning P.W., Hong W., Han W. Tropomodulin3 is a novel Akt2 effector regulating insulin-stimulated GLUT4 exocytosis through cortical actin remodeling // Nat. Commun. 2015. V. 6. P. 5951.

172. Lin S.-Y., Yang C.-P., Wang Y.-Y., Hsiao C.-W., Chen W.-Y., Liao S.-L., Lo Y.-L., Chang Y.-H., Hong C.-J., Chen C.-J. Interleukin-4 Improves Metabolic Abnormalities in Leptin-Deficient and High-Fat Diet Mice // Int. J. Mol. Sci. 2020. V. 21. № 12. P. 4451.

173. Lin Y.-J., Goretzki A., Schülke S. Immune Metabolism of IL-4-Activated B Cells and Th2 Cells in the Context of Allergic Diseases // Front. Immunol. 2021. V. 12. P. 790658.

174. Liu L., Wang S., Shan B., Sang M., Liu S., Wang G. Advances in viral-vector systemic cytokine gene therapy against cancer // Vaccine. 2010. V. 28. № 23. P. 3883–3887.

175. Liu L.S., Spelleken M., Röhrig K., Hauner H., Eckel J. Tumor necrosis factor-alpha acutely inhibits insulin signaling in human adipocytes: implication of the p80 tumor necrosis factor receptor. // Diabetes. 1998. V. 47. № 4. P. 515–522.

176. Lizcano F., Vargas D., Gómez Á., Torrado A. Human ADMC-Derived Adipocyte Thermogenic Capacity Is Regulated by IL-4 Receptor // Stem Cells Int. 2017. V. 2017. P. 1–10.

177. Lodhi I.J., Yin L., Jensen-Urstad A.P.L., Funai K., Coleman T., Baird J.H., El Ramahi M.K., Razani B., Song H., Fu-Hsu F., Turk J., Semenkovich C.F. Inhibiting

Adipose Tissue Lipogenesis Reprograms Thermogenesis and PPARγ Activation to Decrease Diet-Induced Obesity // Cell Metab. 2012. V. 16. № 2. P. 189–201.

178. Löfgren P., Harmelen V. van, Reynisdottir S., Näslund E., Rydén M., Rössner S., Arner P. Secretion of tumor necrosis factor-alpha shows a strong relationship to insulin-stimulated glucose transport in human adipose tissue. // Diabetes. 2000. V. 49. № 5. P. 688–692.

179. Lorenzo M., Fernández-Veledo S., Vila-Bedmar R., Garcia-Guerra L., De Alvaro C., Nieto-Vazquez I. Insulin resistance induced by tumor necrosis factor-alpha in myocytes and brown adipocytes // J. Anim. Sci. 2008. V. 86. № 14 Suppl. P. E94-104.

180. Lumeng C.N., Bodzin J.L., Saltiel A.R. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization // J. Clin. Invest. 2007. V. 117. № 1. P. 175–184.

181. Lund J., Aas V., Tingstad R.H., Van Hees A., Nikolić N. Utilization of lactic acid in human myotubes and interplay with glucose and fatty acid metabolism // Sci. Rep. 2018. V. 8. № 1. P. 9814.

182. Maedler K., Sergeev P., Ris F., Oberholzer J., Joller-Jemelka H.I., Spinas G.A., Kaiser N., Halban P.A., Donath M.Y. Glucose-induced β cell production of IL-1β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets // J. Clin. Invest. 2002. V. 110. № 6. P. 851–860.

183. Makowski L., Chaib M., Rathmell J.C. Immunometabolism: From basic mechanisms to translation. // Immunol. Rev. 2020. V. 295. № 1. P. 5–14.

184. Man K., Kutyavin V.I., Chawla A. Tissue Immunometabolism: Development, Physiology, and Pathobiology. // Cell Metab. 2017. V. 25. № 1. P. 11–26.

185. Marchetti P., Fovez Q., Germain N., Khamari R., Kluza J. Mitochondrial spare respiratory capacity: Mechanisms, regulation, and significance in non-transformed and cancer cells // FASEB J. 2020. V. 34. № 10. P. 13106–13124.

186. Matsuzawa-Nagata N., Takamura T., Ando H., Nakamura S., Kurita S., Misu H., Ota T., Yokoyama M., Honda M., Miyamoto K., Kaneko S. Increased oxidative stress

precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity // Metabolism. 2008. V. 57. № 8. P. 1071–1077.

187. Michailidou Z., Turban S., Miller E., Zou X., Schrader J., Ratcliffe P.J., Hadoke P.W.F., Walker B.R., Iredale J.P., Morton N.M., Seckl J.R. Increased angiogenesis protects against adipose hypoxia and fibrosis in metabolic disease-resistant 11β-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (HSD1)-deficient mice // J. Biol. Chem. 2012. V. 287. № 6. P. 4188–4197.

188. Michurina S., Stafeev I., Podkuychenko N., Sklyanik I., Shestakova E., Yah'yaev K., Yurasov A., Ratner E., Menshikov M., Parfyonova Y., Shestakova M. Decreased UCP-1 expression in beige adipocytes from adipose-derived stem cells of type 2 diabetes patients associates with mitochondrial ROS accumulation during obesity // Diabetes Res. Clin. Pract. 2020. V. 169. P. 108410.

189. Michurina S.S., Stafeev I.S., Menshikov M.Y., Parfyonova Y.V. Mitochondrial dynamics keep balance of nutrient combustion in thermogenic adipocytes // Mitochondrion. 2021. V. 59. P. 157–168.

190. Moqbel R., Ying S., Barkans J., Newman T.M., Kimmitt P., Wakelin M., Taborda-Barata L., Meng Q., Corrigan C.J., Durham S.R., Kay A.B. Identification of messenger RNA for IL-4 in human eosinophils with granule localization and release of the translated product // J. Immunol. Baltim. Md 1950. 1995. V. 155. № 10. P. 4939–4947.

191. Morgan P.E., Dean R.T., Davies M.J. Inhibition of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase by peptide and protein peroxides generated by singlet oxygen attack // Eur. J. Biochem. 2002. V. 269. № 7. P. 1916–1925.

192. Morino K. Reduced mitochondrial density and increased IRS-1 serine phosphorylation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic parents // J. Clin. Invest. 2005. V. 115. № 12. P. 3587–3593.

193. Moro K., Yamada T., Tanabe M., Takeuchi T., Ikawa T., Kawamoto H., Furusawa J.-I., Ohtani M., Fujii H., Koyasu S. Innate production of T(H)2 cytokines by adipose

tissue-associated c-Kit(+)Sca-1(+) lymphoid cells // Nature. 2010. V. 463. № 7280. P. 540–544.

194. Mowers J., Uhm M., Reilly S.M., Simon J., Leto D., Chiang S.-H., Chang L., Saltiel A.R. Inflammation produces catecholamine resistance in obesity via activation of PDE3B by the protein kinases IKKε and TBK1 // eLife. 2013. V. 2. P. e01119.

195. Nedergaard J., Cannon B., Lindberg O. Microcalorimetry of isolated mammalian cells // Nature. 1977. V. 267. № 5611. P. 518–520.

196. Neill D.R., Wong S.H., Bellosi A., Flynn R.J., Daly M., Langford T.K.A., Bucks C., Kane C.M., Fallon P.G., Pannell R., Jolin H.E., McKenzie A.N.J. Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity // Nature. 2010. V. 464. № 7293. P. 1367–1370.

197. Nelms K., Keegan A.D., Zamorano J., Ryan J.J., Paul W.E. The IL-4 receptor: signaling mechanisms and biologic functions // Annu. Rev. Immunol. 1999. V. 17. P. 701–738.

198. Nguyen K.D., Qiu Y., Cui X., Goh Y.P.S., Mwangi J., David T., Mukundan L., Brombacher F., Locksley R.M., Chawla A. Alternatively activated macrophages produce catecholamines to sustain adaptive thermogenesis // Nature. 2011. V. 480. № 7375. P. 104–108.

199. Nieto-Vazquez I., Fernández-Veledo S., Krämer D.K., Vila-Bedmar R., Garcia-Guerra L., Lorenzo M. Insulin resistance associated to obesity: the link TNF-alpha // Arch. Physiol. Biochem. 2008. V. 114. № 3. P. 183–194.

200. Nishimoto Y., Nakajima S., Tateya S., Saito M., Ogawa W., Tamori Y. Cell death-inducing DNA fragmentation factor A-like effector A and fat-specific protein 27β coordinately control lipid droplet size in brown adipocytes // J. Biol. Chem. 2017. V. 292. № 26. P. 10824–10834.

201. Nishimura S., Manabe I., Nagasaki M., Eto K., Yamashita H., Ohsugi M., Otsu M., Hara K., Ueki K., Sugiura S., Yoshimura K., Kadowaki T., Nagai R. CD8+ effector T

cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity // Nat. Med. 2009. V. 15. № 8. P. 914–920.

202. Nøhr M.K., Bobba N., Richelsen B., Lund S., Pedersen S.B. Inflammation Downregulates UCP1 Expression in Brown Adipocytes Potentially via SIRT1 and DBC1 Interaction // Int. J. Mol. Sci. 2017. V. 18. № 5. P. 1006.

203. Oeckl J., Janovska P., Adamcova K., Bardova K., Brunner S., Dieckmann S., Ecker J., Fromme T., Funda J., Gantert T., Giansanti P., Hidrobo M.S., Kuda O., Kuster B., Li Y., Pohl R., Schmitt S., Schweizer S., Zischka H., et al. Loss of UCP1 function augments recruitment of futile lipid cycling for thermogenesis in murine brown fat // Mol. Metab. 2022. V. 61. P. 101499.

204. Ogihara T., Asano T., Katagiri H., Sakoda H., Anai M., Shojima N., Ono H., Fujishiro M., Kushiyama A., Fukushima Y., Kikuchi M., Noguchi N., Aburatani H., Gotoh Y., Komuro I., Fujita T. Oxidative stress induces insulin resistance by activating the nuclear factor-kappa B pathway and disrupting normal subcellular distribution of phosphatidylinositol 3-kinase // Diabetologia. 2004. V. 47. № 5. P. 794–805.

205. Okla M., Zaher W., Alfayez M., Chung S. Inhibitory Effects of Toll-Like Receptor 4, NLRP3 Inflammasome, and Interleukin-1β on White Adipocyte Browning // Inflammation. 2018. V. 41. № 2. P. 626–642.

206. Olsen J.M., Sato M., Dallner O.S., Sandström A.L., Pisani D.F., Chambard J.-C., Amri E.-Z., Hutchinson D.S., Bengtsson T. Glucose uptake in brown fat cells is dependent on mTOR complex 2–promoted GLUT1 translocation // J. Cell Biol. 2014. V. 207. № 3. P. 365–374.

207. Olzmann J.A., Carvalho P. Dynamics and functions of lipid droplets // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2019. V. 20. № 3. P. 137–155.

208. Onal G., Kutlu O., Gozuacik D., Dokmeci Emre S. Lipid Droplets in Health and Disease // Lipids Health Dis. 2017. V. 16. № 1. P. 128.

209. O'Neill L.A.J., Kishton R.J., Rathmell J. A guide to immunometabolism for immunologists. // Nat. Rev. Immunol. 2016. V. 16. № 9. P. 553–565.

210. Onyango A.N. The Contribution of Singlet Oxygen to Insulin Resistance // Oxid. Med. Cell. Longev. 2017. V. 2017. P. 8765972.

211. Onyango A.N. Cellular Stresses and Stress Responses in the Pathogenesis of Insulin Resistance // Oxid. Med. Cell. Longev. 2018. V. 2018. P. 4321714.

212. Orava J., Nuutila P., Lidell M.E., Oikonen V., Noponen T., Viljanen T., Scheinin M., Taittonen M., Niemi T., Enerbäck S., Virtanen K.A. Different metabolic responses of human brown adipose tissue to activation by cold and insulin // Cell Metab. 2011. V. 14. № 2. P. 272–279.

213. Orava J., Nuutila P., Noponen T., Parkkola R., Viljanen T., Enerbäck S., Rissanen A., Pietiläinen K.H., Virtanen K.A. Blunted metabolic responses to cold and insulin stimulation in brown adipose tissue of obese humans // Obes. Silver Spring Md. 2013. V. 21. № 11. P. 2279–2287.

214. O'Rourke R.W., White A.E., Metcalf M.D., Olivas A.S., Mitra P., Larison W.G., Cheang E.C., Varlamov O., Corless C.L., Roberts C.T., Marks D.L. Hypoxia-induced inflammatory cytokine secretion in human adipose tissue stromovascular cells // Diabetologia. 2011. V. 54. № 6. P. 1480–1490.

215. Ozcan U., Yilmaz E., Ozcan L., Furuhashi M., Vaillancourt E., Smith R.O., Görgün C.Z., Hotamisligil G.S. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes // Science. 2006. V. 313. № 5790. P. 1137–1140.

216. Pal D., Dasgupta S., Kundu R., Maitra S., Das G., Mukhopadhyay S., Ray S., Majumdar S.S., Bhattacharya S. Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance // Nat. Med. 2012. V. 18. № 8. P. 1279–1285.

217. Parker R. The role of adipose tissue in fatty liver diseases // Liver Res. 2018. V. 2. № 1. P. 35–42.

218. Pasarica M., Sereda O.R., Redman L.M., Albarado D.C., Hymel D.T., Roan L.E., Rood J.C., Burk D.H., Smith S.R. Reduced Adipose Tissue Oxygenation in Human Obesity // Diabetes. 2009. V. 58. № 3. P. 718–725.

219. Patel P.S., Buras E.D., Balasubramanyam A. The role of the immune system in obesity and insulin resistance // J. Obes. 2013. V. 2013. P. 616193.

220. Patra J.K., Das G., Fraceto L.F., Campos E.V.R., Rodriguez-Torres M.D.P., Acosta-Torres L.S., Diaz-Torres L.A., Grillo R., Swamy M.K., Sharma S., Habtemariam S., Shin H.-S. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects // J. Nanobiotechnology. 2018. V. 16. № 1. P. 71.

221. Paumen M.B., Ishida Y., Muramatsu M., Yamamoto M., Honjo T. Inhibition of Carnitine Palmitoyltransferase I Augments Sphingolipid Synthesis and Palmitate-induced Apoptosis* // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. № 6. P. 3324–3329.

222. Pénicaud L., Ferré P., Terretaz J., Kinebanyan M.F., Leturque A., Doré E., Girard J., Jeanrenaud B., Picon L. Development of obesity in Zucker rats. Early insulin resistance in muscles but normal sensitivity in white adipose tissue // Diabetes. 1987. V. 36. № 5. P. 626–631.

223. Petersen C., Nielsen M.D., Andersen E.S., Basse A.L., Isidor M.S., Markussen L.K., Viuff B.M., Lambert I.H., Hansen J.B., Pedersen S.F. MCT1 and MCT4 Expression and Lactate Flux Activity Increase During White and Brown Adipogenesis and Impact Adipocyte Metabolism // Sci. Rep. 2017. V. 7. № 1. P. 13101.

224. Petersen M.C., Shulman G.I. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. // Physiol. Rev. 2018. V. 98. № 4. P. 2133–2223.

225. Phu T.A., Ng M., Vu N.K., Bouchareychas L., Raffai R.L. IL-4 polarized human macrophage exosomes control cardiometabolic inflammation and diabetes in obesity // Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther. 2022. V. 30. № 6. P. 2274–2297.

226. Pickup J.C., Mattock M.B., Chusney G.D., Burt D. NIDDM as a disease of the innate immune system: association of acute-phase reactants and interleukin-6 with metabolic syndrome X // Diabetologia. 1997. V. 40. № 11. P. 1286–1292.

227. Poppel P.C.M. van, Asseldonk E.J.P. van, Holst J.J., Vilsbøll T., Netea M.G., Tack C.J. The interleukin-1 receptor antagonist anakinra improves first-phase insulin secretion

and insulinogenic index in subjects with impaired glucose tolerance // Diabetes Obes. Metab. 2014. V. 16. № 12. P. 1269–1273.

228. Possik E., Al-Mass A., Peyot M.-L., Ahmad R., Al-Mulla F., Madiraju S.R.M., Prentki M. New Mammalian Glycerol-3-Phosphate Phosphatase: Role in β-Cell, Liver and Adipocyte Metabolism // Front. Endocrinol. 2021. V. 12. P. 706607.

229. Poznyak A.V., Nikiforov N.G., Markin A.M., Kashirskikh D.A., Myasoedova V.A., Gerasimova E.V., Orekhov A.N. Overview of OxLDL and Its Impact on Cardiovascular Health: Focus on Atherosclerosis // Front. Pharmacol. 2020. V. 11. P. 613780.

230. Qian K., Tol M.J., Wu J., Uchiyama L.F., Xiao X., Cui L., Bedard A.H., Weston T.A., Rajendran P.S., Vergnes L., Shimanaka Y., Yin Y., Jami-Alahmadi Y., Cohn W., Bajar B.T., Lin C.-H., Jin B., DeNardo L.A., Black D.L., et al. CLSTN3β enforces adipocyte multilocularity to facilitate lipid utilization // Nature. 2023. V. 613. № 7942. P. 160–168.

231. Qiu Y., Nguyen K.D., Odegaard J.I., Cui X., Tian X., Locksley R.M., Palmiter R.D., Chawla A. Eosinophils and type 2 cytokine signaling in macrophages orchestrate development of functional beige fat // Cell. 2014. V. 157. № 6. P. 1292–1308.

232. Rains J.L., Jain S.K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes // Free Radic. Biol. Med. 2011. V. 50. № 5. P. 567–575.

233. Ramkhelawon B., Hennessy E.J., Ménager M., Ray T.D., Sheedy F.J., Hutchison S., Wanschel A., Oldebeken S., Geoffrion M., Spiro W., Miller G., McPherson R., Rayner K.J., Moore K.J. Netrin-1 promotes adipose tissue macrophage retention and insulin resistance in obesity // Nat. Med. 2014. V. 20. № 4. P. 377–384.

234. Rausch M.E., Weisberg S., Vardhana P., Tortoriello D.V. Obesity in C57BL/6J mice is characterized by adipose tissue hypoxia and cytotoxic T-cell infiltration // Int. J. Obes. 2005. 2008. V. 32. № 3. P. 451–463.

235. Recazens E., Mouisel E., Langin D. Hormone-sensitive lipase: sixty years later // Prog. Lipid Res. 2021. V. 82. P. 101084.

236. Reis A., Rudnitskaya A., Blackburn G.J., Mohd Fauzi N., Pitt A.R., Spickett C.M. A comparison of five lipid extraction solvent systems for lipidomic studies of human LDL // J. Lipid Res. 2013. V. 54. № 7. P. 1812–1824.

237. Remmerie A., Martens L., Scott C.L. Macrophage Subsets in Obesity, Aligning the Liver and Adipose Tissue // Front. Endocrinol. 2020. V. 11. P. 259.

238. Ricardo-Gonzalez R.R., Red Eagle A., Odegaard J.I., Jouihan H., Morel C.R., Heredia J.E., Mukundan L., Wu D., Locksley R.M., Chawla A. IL-4/STAT6 immune axis regulates peripheral nutrient metabolism and insulin sensitivity // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2010. V. 107. № 52. P. 22617–22622.

239. Richter D., Moraga I., Winkelmann H., Birkholz O., Wilmes S., Schulte M., Kraich M., Kenneweg H., Beutel O., Selenschik P., Paterok D., Gavutis M., Schmidt T., Garcia K.C., Müller T.D., Piehler J. Ligand-induced type II interleukin-4 receptor dimers are sustained by rapid re-association within plasma membrane microcompartments // Nat. Commun. 2017. V. 8. P. 15976.

240. Rider M.H., Bertrand L., Vertommen D., Michels P.A., Rousseau G.G., Hue L. 6-Phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase: head-to-head with a bifunctional enzyme that controls glycolysis // Biochem. J. 2004. V. 381. № Pt 3. P. 561–579.

241. Ridker P.M., Everett B.M., Thuren T., MacFadyen J.G., Chang W.H., Ballantyne C., Fonseca F., Nicolau J., Koenig W., Anker S.D., Kastelein J.J.P., Cornel J.H., Pais P., Pella D., Genest J., Cifkova R., Lorenzatti A., Forster T., Kobalava Z., et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease // N. Engl. J. Med. 2017. V. 377. № 12. P. 1119–1131.

242. Rissanen A., Howard C.P., Botha J., Thuren T., Global Investigators. Effect of anti-IL-1β antibody (canakinumab) on insulin secretion rates in impaired glucose tolerance or type 2 diabetes: results of a randomized, placebo-controlled trial // Diabetes Obes. Metab. 2012. V. 14. № 12. P. 1088–1096.

243. Robinson P.J., Bulleid N.J. Mechanisms of Disulfide Bond Formation in Nascent Polypeptides Entering the Secretory Pathway // Cells. 2020. V. 9. № 9. P. 1994.

244. Rohm T.V., Meier D.T., Olefsky J.M., Donath M.Y. Inflammation in Obesity, Diabetes and related Disorders // Immunity. 2022. V. 55. № 1. P. 31–55.

245. Romano M., Fanelli G., Tan N., Nova-Lamperti E., McGregor R., Lechler R.I., Lombardi G., Scottà C. Expanded Regulatory T Cells Induce Alternatively Activated Monocytes With a Reduced Capacity to Expand T Helper-17 Cells // Front. Immunol. 2018. V. 9. P. 1625.

246. Ron D., Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2007. V. 8. № 7. P. 519–529.

247. Rossari F., Birocchi F., Naldini L., Coltella N. Gene-based delivery of immune-activating cytokines for cancer treatment // Trends Mol. Med. 2023. V. 29. № 4. P. 329–342.

248. Ruscitti P., Masedu F., Alvaro S., Airò P., Battafarano N., Cantarini L., Cantatore F.P., Carlino G., D'Abrosca V., Frassi M., Frediani B., Iacono D., Liakouli V., Maggio R., Mulè R., Pantano I., Prevete I., Sinigaglia L., Valenti M., et al. Anti-interleukin-1 treatment in patients with rheumatoid arthritis and type 2 diabetes (TRACK): A multicentre, open-label, randomised controlled trial // PLoS Med. 2019. V. 16. № 9. P. e1002901.

249. Sabio G., Das M., Mora A., Zhang Z., Jun J.Y., Ko H.J., Barrett T., Kim J.K., Davis R.J. A stress signaling pathway in adipose tissue regulates hepatic insulin resistance // Science. 2008. V. 322. № 5907. P. 1539–1543.

250. Saenz S.A., Siracusa M.C., Perrigoue J.G., Spencer S.P., Urban J.F., Tocker J.E., Budelsky A.L., Kleinschek M.A., Kastelein R.A., Kambayashi T., Bhandoola A., Artis D. IL25 elicits a multipotent progenitor cell population that promotes T(H)2 cytokine responses // Nature. 2010. V. 464. № 7293. P. 1362–1366.

251. Sakamoto T., Nitta T., Maruno K., Yeh Y.-S., Kuwata H., Tomita K., Goto T., Takahashi N., Kawada T. Macrophage infiltration into obese adipose tissues suppresses the induction of UCP1 level in mice // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2016. V. 310. № 8. P. E676–E687.

252. Saltiel A.R., Kahn C.R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism // Nature. 2001. V. 414. № 6865. P. 799–806.

253. Saltiel A.R., Olefsky J.M. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease // J. Clin. Invest. 2017. V. 127. № 1. P. 1–4.

254. Sanchez-Gurmaches J., Guertin D.A. Adipocytes arise from multiple lineages that are heterogeneously and dynamically distributed // Nat. Commun. 2014. V. 5. P. 4099.

255. Sanchez-Gurmaches J., Hung C.-M., Guertin D.A. Emerging Complexities in Adipocyte Origins and Identity // Trends Cell Biol. 2016. V. 26. № 5. P. 313–326.

256. Sánchez-Infantes D., Cereijo R., Peyrou M., Piquer-Garcia I., Stephens J.M., Villarroya F. Oncostatin m impairs brown adipose tissue thermogenic function and the browning of subcutaneous white adipose tissue // Obes. Silver Spring Md. 2017. V. 25. № 1. P. 85–93.

257. Sano R., Reed J.C. ER stress-induced cell death mechanisms // Biochim. Biophys. Acta. 2013. V. 1833. № 12. P. 3460–3470.

258. Satapati S., Qian Y., Wu M.S., Petrov A., Dai G., Wang S., Zhu Y., Shen X., Muise E.S., Chen Y., Zycband E., Weinglass A., Di Salvo J., Debenham J.S., Cox J.M., Lan P., Shah V., Previs S.F., Erion M., et al. GPR120 suppresses adipose tissue lipolysis and synergizes with GPR40 in antidiabetic efficacy // J. Lipid Res. 2017. V. 58. № 8. P. 1561–1578.

259. Schmidt F.M., Weschenfelder J., Sander C., Minkwitz J., Thormann J., Chittka T., Mergl R., Kirkby K.C., Faßhauer M., Stumvoll M., Holdt L.M., Teupser D., Hegerl U., Himmerich H. Inflammatory cytokines in general and central obesity and modulating effects of physical activity // PloS One. 2015. V. 10. № 3. P. e0121971.

260. Schmitz M.L., Shaban M.S., Albert B.V., Gökçen A., Kracht M. The Crosstalk of Endoplasmic Reticulum (ER) Stress Pathways with NF-κB: Complex Mechanisms Relevant for Cancer, Inflammation and Infection // Biomedicines. 2018. V. 6. № 2. P. 58.

261. Senn J.J., Klover P.J., Nowak I.A., Mooney R.A. Interleukin-6 Induces Cellular Insulin Resistance in Hepatocytes // Diabetes. 2002. V. 51. № 12. P. 3391–3399.

262. Sethi J.K., Xu H., Uysal K.T., Wiesbrock S.M., Scheja L., Hotamisligil G.S. Characterisation of receptor-specific TNFalpha functions in adipocyte cell lines lacking type 1 and 2 TNF receptors // FEBS Lett. 2000. V. 469. № 1. P. 77–82.

263. Shao M., Gupta R.K. Transcriptional brakes on the road to adipocyte thermogenesis // Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids. 2019. V. 1864. № 1. P. 20–28.

264. Shi H., Kokoeva M.V., Inouye K., Tzameli I., Yin H., Flier J.S. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance // J. Clin. Invest. 2006. V. 116. № 11. P. 3015–3025.

265. Shiau M.-Y., Chuang P.-H., Yang C.-P., Hsiao C.-W., Chang S.-W., Chang K.-Y., Liu T.-M., Chen H.-W., Chuang C.-C., Yuan S.-Y., Chang Y.-H. Mechanism of Interleukin-4 Reducing Lipid Deposit by Regulating Hormone-Sensitive Lipase // Sci. Rep. 2019. V. 9. № 1. P. 11974.

266. Shimobayashi M., Albert V., Woelnerhanssen B., Frei I.C., Weissenberger D., Meyer-Gerspach A.C., Clement N., Moes S., Colombi M., Meier J.A., Swierczynska M.M., Jenö P., Beglinger C., Peterli R., Hall M.N. Insulin resistance causes inflammation in adipose tissue // J. Clin. Invest. 2018. V. 128. № 4. P. 1538–1550.

267. Shungin D., Winkler T.W., Croteau-Chonka D.C., Ferreira T., Locke A.E., Mägi R., Strawbridge R.J., Pers T.H., Fischer K., Justice A.E., Workalemahu T., Wu J.M.W., Buchkovich M.L., Heard-Costa N.L., Roman T.S., Drong A.W., Song C., Gustafsson S., Day F.R., et al. New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution. // Nature. 2015. V. 518. № 7538. P. 187–196.

268. Silva J.P., Köhler M., Graff C., Oldfors A., Magnuson M.A., Berggren P.-O., Larsson N.-G. Impaired insulin secretion and β-cell loss in tissue-specific knockout mice with mitochondrial diabetes // Nat. Genet. 2000. V. 26. № 3. P. 336–340.

269. Singh A.M., Zhang L., Avery J., Yin A., Du Y., Wang H., Li Z., Fu H., Yin H., Dalton S. Human beige adipocytes for drug discovery and cell therapy in metabolic diseases // Nat. Commun. 2020. V. 11. № 1. P. 2758.

270. Slayton M., Gupta A., Balakrishnan B., Puri V. CIDE Proteins in Human Health and Disease // Cells. 2019. V. 8. № 3. P. 238.

271. Smith G.I., Shankaran M., Yoshino M., Schweitzer G.G., Chondronikola M., Beals J.W., Okunade A.L., Patterson B.W., Nyangau E., Field T., Sirlin C.B., Talukdar S., Hellerstein M.K., Klein S. Insulin resistance drives hepatic de novo lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease // J. Clin. Invest. 2020. V. 130. № 3. P. 1453–1460.

272. Smith T.D., Tse M.J., Read E.L., Liu W.F. Regulation of macrophage polarization and plasticity by complex activation signals // Integr. Biol. 2016. V. 8. № 9. P. 946–955.

273. Solinas G., Summermatter S., Mainieri D., Gubler M., Pirola L., Wymann M.P., Rusconi S., Montani J.-P., Seydoux J., Dulloo A.G. The direct effect of leptin on skeletal muscle thermogenesis is mediated by substrate cycling between de novo lipogenesis and lipid oxidation // FEBS Lett. 2004. V. 577. № 3. P. 539–544.

274. Solomon D.H., Massarotti E., Garg R., Liu J., Canning C., Schneeweiss S. Association between disease-modifying antirheumatic drugs and diabetes risk in patients with rheumatoid arthritis and psoriasis // JAMA. 2011. V. 305. № 24. P. 2525–2531.

275. Son S.-E., Kim N.-J., Im D.-S. Development of Free Fatty Acid Receptor 4 (FFA4/GPR120) Agonists in Health Science // Biomol. Ther. 2021. V. 29. № 1. P. 22–30.

276. Song Z., Xiaoli A.M., Yang F. Regulation and Metabolic Significance of De Novo Lipogenesis in Adipose Tissues // Nutrients. 2018. V. 10. № 10. P. 1383.

277. Soto-Heredero G., Gómez De Las Heras M.M., Gabandé-Rodríguez E., Oller J., Mittelbrunn M. Glycolysis – a key player in the inflammatory response // FEBS J. 2020. V. 287. № 16. P. 3350–3369.

278. Soumyarani V.S., Jayakumari N. Oxidatively modified high density lipoprotein promotes inflammatory response in human monocytes-macrophages by enhanced production of ROS, TNF-α, MMP-9, and MMP-2 // Mol. Cell. Biochem. 2012. V. 366. № 1–2. P. 277–285.

279. Spranger J., Kroke A., Möhlig M., Hoffmann K., Bergmann M.M., Ristow M., Boeing H., Pfeiffer A.F.H. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population-based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study // Diabetes. 2003. V. 52. № 3. P. 812–817.

280. Stahl E. Thin-layer Chromatography: A Laboratory Handbook // 1969.

281. Stark J.M., Tibbitt C.A., Coquet J.M. The Metabolic Requirements of Th2 Cell Differentiation // Front. Immunol. 2019. V. 10. P. 2318.

282. Steinberg D., Huttunen J.K. The role of cyclic AMP in activation of hormone-sensitive lipase of adipose tissue. // Adv. Cyclic Nucleotide Res. 1972. V. 1. P. 47–62.

283. Stephens J.M., Lee J., Pilch P.F. Tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction // J. Biol. Chem. 1997. V. 272. № 2. P. 971–976.

284. Stienstra R., Joosten L.A.B., Koenen T., Tits B. van, Diepen J.A. van, Berg S.A.A. van den, Rensen P.C.N., Voshol P.J., Fantuzzi G., Hijmans A., Kersten S., Müller M., Berg W.B. van den, Rooijen N. van, Wabitsch M., Kullberg B.-J., Meer J.W.M. van der, Kanneganti T., Tack C.J., et al. The inflammasome-mediated caspase-1 activation controls adipocyte differentiation and insulin sensitivity // Cell Metab. 2010. V. 12. № 6. P. 593–605.

285. Sun K., Halberg N., Khan M., Magalang U.J., Scherer P.E. Selective Inhibition of Hypoxia-Inducible Factor 1α Ameliorates Adipose Tissue Dysfunction // Mol. Cell. Biol. 2013. V. 33. № 5. P. 904–917.

286. Svedberg J., Björntorp P., Smith U., Lönnroth P. Free-fatty acid inhibition of insulin binding, degradation, and action in isolated rat hepatocytes // Diabetes. 1990. V. 39. № 5. P. 570–574.

287. Tang Y., Wallace M., Sanchez-Gurmaches J., Hsiao W.-Y., Li H., Lee P.L., Vernia S., Metallo C.M., Guertin D.A. Adipose tissue mTORC2 regulates ChREBP-driven de novo lipogenesis and hepatic glucose metabolism // Nat. Commun. 2016. V. 7. P. 11365.

288. Thomas G., Betters J.L., Lord C.C., Brown A.L., Marshall S., Ferguson D., Sawyer J., Davis M.A., Melchior J.T., Blume L.C., Howlett A.C., Ivanova P.T., Milne S.B., Myers D.S., Mrak I., Leber V., Heier C., Taschler U., Blankman J.L., et al. The serine hydrolase ABHD6 Is a critical regulator of the metabolic syndrome // Cell Rep. 2013. V. 5. № 2. P. 508–520.

289. Timper K., Hruz P., Beglinger C., Donath M.Y. Infliximab in the treatment of Crohn disease and type 1 diabetes // Diabetes Care. 2013. V. 36. № 7. P. e90-91.

290. Toh S.Y., Gong J., Du G., Li J.Z., Yang S., Ye J., Yao H., Zhang Y., Xue B., Li Q., Yang H., Wen Z., Li P. Up-Regulation of Mitochondrial Activity and Acquirement of Brown Adipose Tissue-Like Property in the White Adipose Tissue of Fsp27 Deficient Mice // PLoS ONE. 2008. V. 3. № 8. P. e2890.

291. Trayhurn P. Hypoxia and Adipose Tissue Function and Dysfunction in Obesity // Physiol. Rev. 2013. V. 93. № 1. P. 1–21.

292. Trop-Steinberg S., Azar Y. AP-1 Expression and its Clinical Relevance in Immune Disorders and Cancer // Am. J. Med. Sci. 2017. V. 353. № 5. P. 474–483.

293. Tsao C.-H., Shiau M.-Y., Chuang P.-H., Chang Y.-H., Hwang J. Interleukin-4 regulates lipid metabolism by inhibiting adipogenesis and promoting lipolysis // J. Lipid Res. 2014. V. 55. № 3. P. 385–397.

294. Turner N., Kowalski G.M., Leslie S.J., Risis S., Yang C., Lee-Young R.S., Babb J.R., Meikle P.J., Lancaster G.I., Henstridge D.C., White P.J., Kraegen E.W., Marette A., Cooney G.J., Febbraio M.A., Bruce C.R. Distinct patterns of tissue-specific lipid

accumulation during the induction of insulin resistance in mice by high-fat feeding. // Diabetologia. 2013. V. 56. № 7. P. 1638–1648.

295. Uysal K.T., Wiesbrock S.M., Hotamisligil G.S. Functional analysis of tumor necrosis factor (TNF) receptors in TNF-alpha-mediated insulin resistance in genetic obesity // Endocrinology. 1998. V. 139. № 12. P. 4832–4838.

296. Valentine J.M., Ahmadian M., Keinan O., Abu-Odeh M., Zhao P., Zhou X., Keller M.P., Gao H., Yu R.T., Liddle C., Downes M., Zhang J., Lusis A.J., Attie A.D., Evans R.M., Rydén M., Saltiel A.R. β3-Adrenergic receptor downregulation leads to adipocyte catecholamine resistance in obesity // J. Clin. Invest. 2022. V. 132. № 2. P. e153357.

297. Vandanmagsar B., Youm Y.-H., Ravussin A., Galgani J.E., Stadler K., Mynatt R.L., Ravussin E., Stephens J.M., Dixit V.D. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance // Nat. Med. 2011. V. 17. № 2. P. 179–188.

298. Vats D., Mukundan L., Odegaard J.I., Zhang L., Smith K.L., Morel C.R., Greaves D.R., Murray P.J., Chawla A. Oxidative metabolism and PGC-1β attenuate macrophage-mediated inflammation // Cell Metab. 2006. V. 4. № 1. P. 13–24.

299. Velikova T.V., Kabakchieva P.P., Assyov Y.S., Georgiev T.A. Targeting Inflammatory Cytokines to Improve Type 2 Diabetes Control // BioMed Res. Int. 2021. V. 2021. P. 1–12.

300. Veliova M., Ferreira C.M., Benador I.Y., Jones A.E., Mahdaviani K., Brownstein A.J., Desousa B.R., Acín-Pérez R., Petcherski A., Assali E.A., Stiles L., Divakaruni A.S., Prentki M., Corkey B.E., Liesa M., Oliveira M.F., Shirihai O.S. Blocking mitochondrial pyruvate import in brown adipocytes induces energy wasting via lipid cycling // EMBO Rep. 2020. V. 21. № 12. P. e49634.

301. Villarroya F., Cereijo R., Gavaldà-Navarro A., Villarroya J., Giralt M. Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease // J. Intern. Med. 2018. V. 284. № 5. P. 492–504.

302. Waeber G., Delplanque J., Bonny C., Mooser V., Steinmann M., Widmann C., Maillard A., Miklossy J., Dina C., H Hani E., Waeber G., Delplanque J., Vionnet N.,

Nicod P., Boutin P., Froguel P. The gene MAPK8IP1, encoding islet-brain-1, is a candidate for type 2 diabetes // Nat. Genet. 2000. V. 24. № 3. P. 291–295.

303. Wallace M., Metallo C.M. Tracing insights into de novo lipogenesis in liver and adipose tissues // Semin. Cell Dev. Biol. 2020. V. 108. P. 65–71.

304. Wandrer F., Liebig S., Marhenke S., Vogel A., John K., Manns M.P., Teufel A., Itzel T., Longerich T., Maier O., Fischer R., Kontermann R.E., Pfizenmaier K., Schulze-Osthoff K., Bantel H. TNF-Receptor-1 inhibition reduces liver steatosis, hepatocellular injury and fibrosis in NAFLD mice // Cell Death Dis. 2020. V. 11. № 3. P. 212.

305. Wang X., Sun Y., Chen X., Zhang W. Interleukin-4-induced FABP4 promotes lipogenesis in human skeletal muscle cells by activating the PPAR γ signaling pathway // Cell Biochem. Biophys. 2022. V. 80. № 2. P. 355–366.

306. Wen H., Gris D., Lei Y., Jha S., Zhang L., Huang M.T.-H., Brickey W.J., Ting J.P.-Y. Fatty acid-induced NLRP3-ASC inflammasome activation interferes with insulin signaling // Nat. Immunol. 2011. V. 12. № 5. P. 408–415.

307. White M.F., Livingston J.N., Backer J.M., Lauris V., Dull T.J., Ullrich A., Kahn C.R. Mutation of the insulin receptor at tyrosine 960 inhibits signal transmission but does not affect its tyrosine kinase activity // Cell. 1988. V. 54. № 5. P. 641–649.

308. White M.F., Kahn C.R. Insulin action at a molecular level - 100 years of progress // Mol. Metab. 2021. V. 52. P. 101304.

309. Wilhelm M., Rossmeislová L., Šiklová M. Approaches to Measuring the Activity of Major Lipolytic and Lipogenic Enzymes In Vitro and Ex Vivo // Int. J. Mol. Sci. 2022. V. 23. № 19. P. 11093.

310. Winer S., Paltser G., Chan Y., Tsui H., Engleman E., Winer D., Dosch H.-M. Obesity predisposes to Th17 bias // Eur. J. Immunol. 2009. V. 39. № 9. P. 2629–2635.

311. Woo C.-Y., Jang J.E., Lee S.E., Koh E.H., Lee K.-U. Mitochondrial Dysfunction in Adipocytes as a Primary Cause of Adipose Tissue Inflammation // Diabetes Metab. J. 2019. V. 43. № 3. P. 247.

312. Wu D., Molofsky A.B., Liang H.-E., Ricardo-Gonzalez R.R., Jouihan H.A., Bando J.K., Chawla A., Locksley R.M. Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis // Science. 2011. V. 332. № 6026. P. 243–247.

313. Xie H., Heier C., Meng X., Bakiri L., Pototschnig I., Tang Z., Schauer S., Baumgartner V.J., Grabner G.F., Schabbauer G., Wolinski H., Robertson G.R., Hoefler G., Zeng W., Wagner E.F., Schweiger M., Zechner R. An immune-sympathetic neuron communication axis guides adipose tissue browning in cancer-associated cachexia // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2022. V. 119. № 9. P. e2112840119.

314. Xu H., Sethi J.K., Hotamisligil G.S. Transmembrane tumor necrosis factor (TNF)-alpha inhibits adipocyte differentiation by selectively activating TNF receptor 1 // J. Biol. Chem. 1999. V. 274. № 37. P. 26287–26295.

315. Yan Q., Lu Y., Zhou L., Chen J., Xu H., Cai M., Shi Y., Jiang J., Xiong W., Gao J., Wang H. Mechanistic insights into GLUT1 activation and clustering revealed by super-resolution imaging // Proc. Natl. Acad. Sci. 2018. V. 115. № 27. P. 7033–7038.

316. Yang C.-P., Shiau M.-Y., Lai Y.-R., Ho K.-T., Hsiao C.-W., Chen C.-J., Lo Y.-L., Chang Y.-H. Interleukin-4 Boosts Insulin-Induced Energy Deposits by Enhancing Glucose Uptake and Lipogenesis in Hepatocytes // Oxid. Med. Cell. Longev. 2018. V. 2018. P. 1–15.

317. Yang G., Murashige D.S., Humphrey S.J., James D.E. A Positive Feedback Loop between Akt and mTORC2 via SIN1 Phosphorylation // Cell Rep. 2015a. V. 12. № 6. P. 937–943.

318. Yang L., Zhao D., Ren J., Yang J. Endoplasmic reticulum stress and protein quality control in diabetic cardiomyopathy // Biochim. Biophys. Acta. 2015b. V. 1852. № 2. P. 209–218.

319. Ye J., Gao Z., Yin J., He Q. Hypoxia is a potential risk factor for chronic inflammation and adiponectin reduction in adipose tissue of ob/ob and dietary obese mice // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2007. V. 293. № 4. P. E1118-1128.

320. Yore M.M., Syed I., Moraes-Vieira P.M., Zhang T., Herman M.A., Homan E.A., Patel R.T., Lee J., Chen S., Peroni O.D., Dhaneshwar A.S., Hammarstedt A., Smith U., McGraw T.E., Saghatelian A., Kahn B.B. Discovery of a Class of Endogenous Mammalian Lipids with Anti-Diabetic and Anti-inflammatory Effects // Cell. 2014. V. 159. № 2. P. 318–332.

321. Yu J., Loh K., Song Z., Yang H., Zhang Y., Lin S. Update on glycerol-3-phosphate acyltransferases: the roles in the development of insulin resistance // Nutr. Diabetes. 2018. V. 8. № 1. P. 1–10.

322. Yu L., Li Y., Grisé A., Wang H. CGI-58: Versatile Regulator of Intracellular Lipid Droplet Homeostasis // Adv. Exp. Med. Biol. 2020. V. 1276. P. 197–222.

323. Zamarron B.F., Mergian T.A., Cho K.W., Martinez-Santibanez G., Luan D., Singer K., DelProposto J.L., Geletka L.M., Muir L.A., Lumeng C.N. Macrophage Proliferation Sustains Adipose Tissue Inflammation in Formerly Obese Mice // Diabetes. 2017. V. 66. № 2. P. 392–406.

324. Zebisch K., Voigt V., Wabitsch M., Brandsch M. Protocol for effective differentiation of 3T3-L1 cells to adipocytes // Anal. Biochem. 2012. V. 425. № 1. P. 88–90.

325. Zeng Q., Sun X., Xiao L., Xie Z., Bettini M., Deng T. A Unique Population: Adipose-Resident Regulatory T Cells // Front. Immunol. 2018. V. 9. P. 2075.

326. Zhang H.H., Halbleib M., Ahmad F., Manganiello V.C., Greenberg A.S. Tumor necrosis factor-alpha stimulates lipolysis in differentiated human adipocytes through activation of extracellular signal-related kinase and elevation of intracellular cAMP // Diabetes. 2002a. V. 51. № 10. P. 2929–2935.

327. Zhang J.-L., Buehner M., Sebald W. Functional epitope of common gamma chain for interleukin-4 binding // Eur. J. Biochem. 2002b. V. 269. № 5. P. 1490–1499.

328. Zhang K., Guo X., Yan H., Wu Y., Pan Q., Shen J.Z., Li X., Chen Y., Li L., Qi Y., Xu Z., Xie W., Zhang W., Threadgill D., He L., Villarreal D., Sun Y., White M.F., Zheng

H., et al. Phosphorylation of Forkhead Protein FoxO1 at S253 Regulates Glucose Homeostasis in Mice // Endocrinology. 2019. V. 160. № 5. P. 1333–1347.

329. Zhang W., Xu L., Zhu L., Liu Y., Yang S., Zhao M. Lipid Droplets, the Central Hub Integrating Cell Metabolism and the Immune System // Front. Physiol. 2021. V. 12. P. 746749.

330. Zhuang S., Kochevar I.E. Singlet Oxygen–induced Activation of Akt/Protein Kinase B is Independent of Growth Factor Receptors¶ // Photochem. Photobiol. 2003. V. 78. № 4. P. 361–371.

331. Zick Y. Uncoupling insulin signalling by serine/threonine phosphorylation: a molecular basis for insulin resistance // Biochem. Soc. Trans. 2004. V. 32. № Pt 5. P. 812–816.

332. World Obesity Atlas [Электронный ресурс]. URL: https://data.worldobesity.org/publications/?cat=19 (дата обращения: 14.08.2023).

333. Tissue expression of GK - Summary - The Human Protein Atlas [Электронный ресурс]. URL: https://www.proteinatlas.org/ENSG00000198814-GK/tissue (дата обращения: 07.09.2023).