УДК 577.352.4

ДИСРЕГУЛЯЦИЯ CA^{2+}-СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ АДИПОЦИТОВ ПРИ ОЖИРЕНИИ И ДИАБЕТЕ 2-ГО ТИПА

[1]Сергеев А.И., [2]Сирота Н.П., [1]Туровский Е.А., [1]Туровская М.В., [2]Хаустова Я.В., [2]Симонова М.А., [2]Гришина Е.В., [1]Долгачева Л.П., [1]Зинченко В.П., [2]Дынник В.В.

[1]Учреждение Российской академии наук Институт биофизики клетки РАН, Пущино;
[2]Учреждение Российской академии наук Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, e-mail: dynnik@rambler.ru, vpz@mail.ru

С использованием методов флуоресцентной микроскопии, иммунохимии и ПЦР-анализа проведено сравнительное исследование особенностей динамического поведения и экспрессии генов IP_3 и NO/cGMP зависимых Ca^{2+}-сигнальных и метаболических путей адипоцитов здоровых мышей и животных с ожирением и диабетом 2-го типа (D2T). Показано, что культивируемые адипоциты (9DIV), выделенные из эпидидимальных депо белой жировой ткани здоровых мышей при аппликации 1–10 мкМ ацетилхолина (Ach) или норадреналина (NE) способны генерировать разнообразные Ca^{2+}-колебания, триггерные переключения и Ca^{2+}-спайки. Периоды колебаний растут при увеличении размеров клеток до 150–200 мкм и накоплении в них липидов. Культивируемые адипоциты животных с ожирением способны расти и накапливать липиды только в присутствии жирных кислот в среде. В таких клетках Ach и NE (15–30 мкМ) приводят только к генерации Ca^{2+}-спайков с выходом на плато. У животных с Д2Т зрелые гипертрофированные адипоциты имеют малый объем свободной, не занятой липидами цитоплазмы. В таких клетках Ach и NE также могут вызвать только Ca^{2+}-импульсы малой амплитуды или монотонный рост $[Ca^{2+}]_i$. Утрата клетками способности генерировать разнообразные типы Ca^{2+}-ответов при ожирении и Д2Т может быть связана с наблюдаемыми сдвигами и подавлением экспрессии ряда генов, контролирующих Ca^{2+}-сигнальные пути (в первую очередь с участием NO/cGMP/cADPr) и метаболические пути синтеза и распада липидов клеток жировой ткани.

Ключевые слова: адипоциты, норадреналин, ацетилхолин, Ca^{2+}-сигнализация, экспрессия генов, ожирение, диабет 2-го типа.

DYSREGULATION OF CA^{2+} SIGNALING IN WHITE RODENT ADIPOCYTES IN OBESITY AND TYPE 2 DIABETES

[1]Sergeev A.I., [2]Sirota N.P., [1]Turovsky E.A., [1]Turovskaya M.V., [2]Chaustova Y.V., [2]Simonova M.A., [2]Grishina E.V., [1]Dolgacheva L.P., [1]Zinchenko V.P., [2]Dynnik V.V.

[1]Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino;
[2]Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, e-mail: dynnik@rambler.ru, vpz@mail.ru

Purpose. To study the influence of adipocytes size, obesity and type 2 diabetes on Ca^{2+}signaling in adipocytes. Methods. Cultured (9DIV) and mature adipocytes from epididimal depots of healthy, obese or diabetic mice were used in experiments with the application of fluorescent microscopy and real time PCR-analysis. Results. 9DIV adipocytes from healthy mice responds to application of 1-10μM acetylcholine (Ach) or noradrenaline (NE) by generation of: Ca^{2+} oscillations, Ca^{2+} spikes or triggering phenomena. The enlargement of adipocyte size and of lipid depots accumulated result in the shift rfom fast to slow oscillatory regimes and to Ca^{2+} spikes. Cultured adipocytes from obese animals (accumulating lipids only with fatty acids in growing media) respond to 10-30μM Ach or NE only by Ca^{2+} spikes with plateau phase. Mature adipocytes of diabetic animals (having 1–5 % of the cytoplasm free from lipids) generate only Ca^{2+} spikes of low amplitudes or produce slow rise in Ca^{2+} in the vicinity of nucleus. In comparison with liver in adipose tissue type 2 diabetes results in the strong suppression of expression of most key genes of Ca^{2+} signaling pathways (except IP_3R and PKG) and of lipid metabolic pathways. Conclusions. The changes in the profiles of expressions and of activities of key enzymes and Ca^{2+} channels of Ca^{2+} signaling pathways in white adipocytes may be responsible for the observed loss of dynamical versatility.

Keywords: adipocytes, noradrenaline, acetylcholine, Ca^{2+} signaling, expression of genes, obesity, type 2 diabetes

Нейротрансмиттеры Ach и NE и пептидные гормоны холецистокинин, брадикинин и др. вызывают в клетках печени, поджелудочной железы, гладкомышечных клетках и адипоцитах белой жировой ткани регистрируются разнообразные типы сложных и простых Ca^{2+}-колебаний и автоволны, Ca^{2+}-спайки и триггерные переключения [2, 7–12]. Такое поведение характерно для клеток, выделенных из тканей и органов здоровых животных, хотя роль таких периодических и квазипериодических процессов в регуляции Ca^{2+}-сигнальных и метаболических систем до настоящего времени изучена недостаточно.

Известно, что ожирение и D2T приводят к существенным изменениям в экспрессии генов, контролирующих экспрессию белков – ферментов и каналов различных сигнальных и метаболических систем [3, 5]. Это в свою очередь может приводить к дисрегуляции различных сигнальных и метаболических систем и дисфункции соответствующих органов и тканей. При ожирении и Д2Т имеют место: инсулиновая резистентность, связанная с развитием сте-

атоза печени; стеатоз поджелудочной железы; гипертензия сосудов; гипертрофия и гибель адипоцитов и трансформация жировой ткани из активного буфера токсичных жирных кислот и важного эндокринного органа в орган, не способный запасать жирные кислоты и глюкозу, продуцирующий провоспалительные цитокины [1, 4, 6].

Поэтому изучение механизмов регуляции и закономерностей, приводящих к дисрегуляции Ca^{2+}-сигнальных и метаболических систем и к дисфункциии соответствующих органов и тканей при ожирении и D2T, является актуальным.

Материалы и методы исследования

В экспериментах использовали первичную культуру белых адипоцитов мыши на 9 день культивирования (9 DIV), полученную из мезенхимальной фракции стволовых клеток эпидидимального жирового депо и зрелые одиночные клетки без культивирования. Измерение динамики цитозольного кальция ($[Ca^{2+}]_i$) проводили с помощью системы анализа изображений «Cell observer» (Carl Zeiss, Германия), на базе моторизованного микроскопа Axiovert 200M с высокоскоростной черно-белой CCD-камерой AxioCam HSm. Источником света служила ртутная лампа HBO 100. Возбуждение флуоресценции Fura-2 проводили при двух длинах волн (340 и 387 нм) с использованием запирающих светофильтров BP 340/30 и BP 387/15.

Ожирение и D2T вызывали, скармливая животным свиной хребтовый жир в течение 10 месяцев с последующим отбором животных в группы: ожирения и D2T на основании измерений концентраций липидов, инсулина и глюкозы в крови. Критерии распределения животных на группы приведены в табл. 1.

Таблица 1

Здоровые животные, животные с ожирением и диабетом 2-го типа

Группы животных, состояние:	Вес жировой ткани, (% веса)	Глюкоза, (мМ)	Инсулин, (нг/мл)	Триглицериды, (мМ)	Жирные кислоты, (мМ)	Холестерин, (мМ)
Здоровые	< 15	4,0–6,0	< 0,5	0,5–1,2	0,3–1,2	1,5–2,5
Ожирение	≥ 15	8,0–12,0	0,5–1,5 (2,0)	1,0–2,0	1,5–2,5	2,5–4,5
Диабет 2-го типа	> 15	12,0–20,0	2,0–3,5	1,8–2,5	1,5–3,0	4,0–6,0

Культивируемые адипоциты получали из преадипоцитов здоровых животных и из преадипоцитов животных с ожирением. Зрелые клетки выделяли из жировой ткани животных с D2T. Сравнительные эксперименты по экспрессии мРНК проводились с использованием образцов печени и жировой ткани животных с D2T (возраст – 1 год) и здоровых животных (возраст – 2–3 месяца).

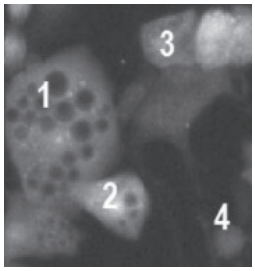
Препараты тотальной РНК экстрагировали с помощью реагента Triazol (Sigma) и использовали в качестве матрицы при постановке реакции обратной транскрипции (ОТ) для получения кДНК. Перед постановкой реакции ОТ проводили определение концентрации тотальной РНК с помощью набора Quant-iT™ RNA BR Assay Kit на приборе QubitTM fluorometer (Invitrogen, USA). Реакцию ОТ проводили со случайными гексапраймерами (фирма «Синтол», Россия). Полученная кДНК использовалась для постановки полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (RT PCR). Работа выполнена с использованием прибора 7300 Real-Time PCR System (Applied Biosystem, USA) Регионального Центра коллективного пользования УРАН ИТЭБ РАН. В качестве праймеров и зондов были использованы коммерчески доступные киты фирмы Applied Biosystem, (USA). Условия проведения реакции согласно рекомендациям фирмы производителя.

Результаты исследований и их обсуждение

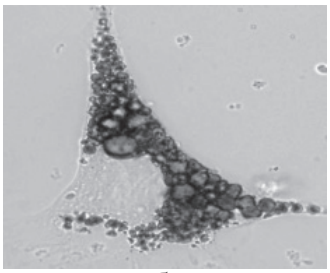
Характерные размеры и морфология адипоцитов. На рисунке, а представлены наиболее характерные типы адипоцитов малого (площадью $S =< 300\ \mu m^2$); среднего ($S = 500–900\ \mu m^2$) и большого ($S => 1100\ \mu m^2$) размеров с различными включениями липидов, полученные из преадипоцитов здоровых животных в культуре 9DIV, растущей на глюкозе. Объем жировых включений увеличивается с ростом размеров клеток в культуре. В малых клетках, содержащих несколько малых жировых капель, объем жировых включений может составить 10–20% объема цитоплазмы, тогда как в больших – 70–90% объема цитоплазмы (рисунок, а). На рисунке, б получены культуры из преадипоцитов животных с ожирением. Такие клетки способны накапливать липиды только в присутствии жирных кислот в средах инкубации. У части клеток липидные включения отсутствуют. В других клетках липиды могут занимать до 70–90% объема цитоплазмы. На рисунке, в представлены зрелые адипоциты животных с D2T. В таких гипертрофированных клетках объем цитоплазмы, не занятой липидными включениями, составляет от 1 до 5%.

Ca^{2+}-сигнализация в адипоцитах здоровых животных. Основные типы периодических и квазипериодических Ca^{2+}-колебаний, а также импульсных и триггерных Ca^{2+}-ответов, возникающих при аппликации 1–5 мкМ Ach или NE, представлены на рисунке, г–м.

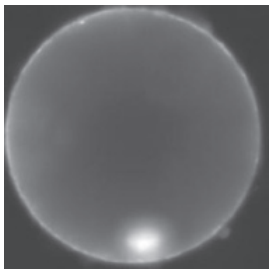
Ранее нами было показано, что культивируемые адипоциты здоровых животных



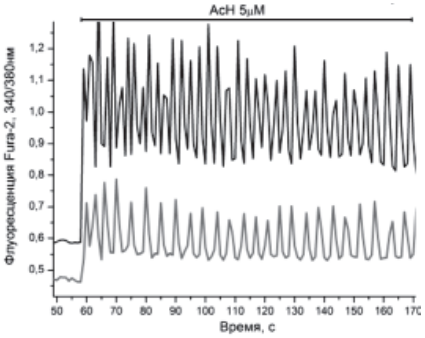
а



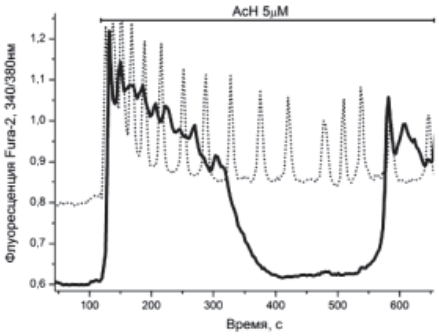
б



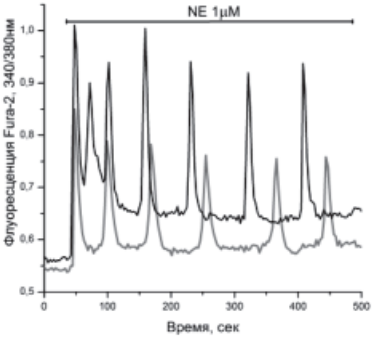
в



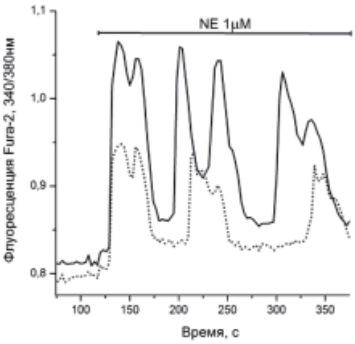
г



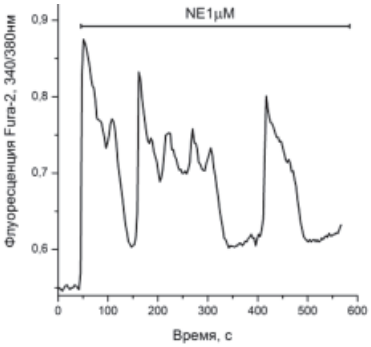
д



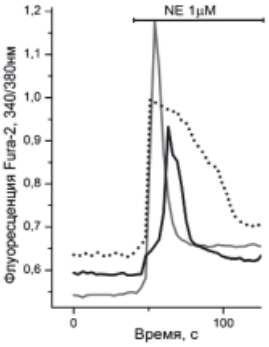
е



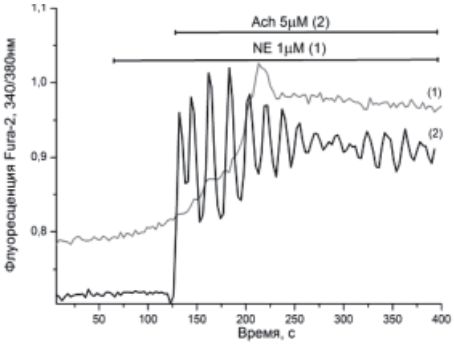
ж



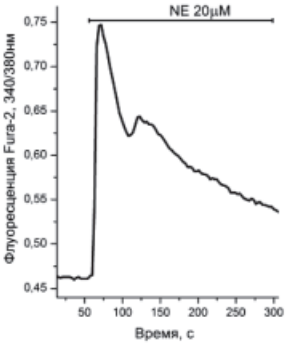
з



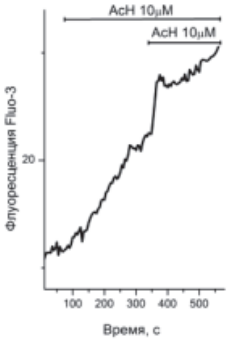
и



к



л



м

Типы и размеры культивируемых (А, Б) и зрелых (В) адипоцитов и возможные типы Ca2 + ответов в них (Г-М) при аппликации Ach, NE. Пояснения на рисунках и в тексте. S – площадь клетки в μm²: а – к онтроль. Адипоцит в клеточной культуре (9DIV). Прокраска Fura-2. S_1 = > 1100 μm²; $S_{2,3}$ = 500-900 μm². S_4 = < 300 μm²; б – ожирение. Адипоцит в клеточной культуре (12DIV). Изображение в проходящем свете. S = > 1100 μm²; в – D2T. Зрелый адипоцит. Прокраска Hoechst 33342. S = 7850 μm²; г – Ach 5μM. S = < 300 μm²; д – Ach 5μM. S = 500-900 μm²; е – NE 1μM. S = < 300 μm²; ж – NE 1μM. S = 500-900 μm²; з – NE 1μM. S = > 1100 μm²; и – NE 1μM. S = < 300 μm²; к – Ach 5μM. NE 1μM. S = 500-900 μm²; л – NE 20μM. S = > 1100 μm²; м – Ach 10 μM; Ach 10μM. S = 7850 μm²

при аппликации Ach или NE (1–10 мкМ) или сыворотки FBS способны генерировать Ca^{2+}-колебания различного периода и формы, а также Ca^{2+}-импульсы и триггерные переключения, связанные с активацией рианодинового рецептора (RyR) и Ca^{2+}-сигнального пути с участием NO/cGMP/cADPr [10] или с вовлечением IP_3 рецептора (IP_3R) и Ca^{2+}-сигнального пути с участием PLC/IP_3/IP_3R [11].

Включение того или иного Ca^{2+}-сигнального пути зависит от типов активируемых рецепторов (α_1, α_2 или m_3) и от наличия L-аргинина в среде инкубации клеток. Влияние размеров клеток на тип генерируемых ответов ранее нами не анализировалось.

На рисунке, г представлены «быстрые» Ca^{2+}-колебания с периодом от 1 до 10 секунд, наблюдающиеся в клетках малого размера в отсутствие L-аргинина в среде при действии Ach. В таких клетках реже наблюдаются незатухающие колебания с периодом 30–60 секунд (не показано). В клетках среднего и большого размеров наблюдаются колебания с периодами от нескольких десятков до нескольких сотен секунд (рисунок, д). Генерация пачек импульсов с периодом от 1 до 10 секунд с последующей десенситизацией рецепторов и прекращением колебаний, характерна только для клеток малого размера в присутствии Ach. При аппликации NE (1–10 мкМ) в зависимости от размеров клеток возникают устойчивые или затухающие Ca^{2+}-колебания с периодами: 15–25 сек (не показано); 50–100 сек (рисунок, е) или несколько минут (рисунок, ж, з). Колебания могут быть простой (рисунок, г, е) или сложной формы (рисунок, ж, з). Наряду с периодическими режимами в культурах 9DIV часть клеток среднего и большого размера может отвечать генерацией одиночных импульсов Ca^{2+}(рисунок, и) или триггерным переключением (рисунок, к). Возникновение импульсных или триггерных ответов чаще наблюдается при аппликации NE в сравнении с действием Ach.

Сводные данные о типах ответов при действии Ach и NE приведены в табл. 2. Знаками (+) отмечено наличие у клеток определенных размеров данного типа ответа. Знаками (–) отмечено отсутствие данного типа ответа. Количество знаков (+) указывает на частоту появления соответствующего режима в клетках того или иного размера.

Таблица 2

Типы Ca^{2+}-ответов под действием Ach и NE в адипоцитах здоровых животных. Зависимость типа ответа от размеров клетки

Площадь клеток (μm^2)	Ca^{2+}-колебания (периоды, с)					Импульсные ответы	Триггерные переключения
	1–10	15–25	50–100	100–150	200–350		
Агонист: 1-5 мкМ Ach							
< 300	+++++	++	–	–	–	–	–
500–900	++	++	++	–	–	+	+
> 1100	+	+	++	++	–	+	+
Агонист: 1-5 мкМ NE							
< 300	–	++	+	+	–	++	–
500–900	–	+	+	+	_	++	+
> 1100	–	–	+	+	+	++	+

Из табл. 2 видно, что, как при действии Ach, так и при действии NE, с увеличением размера клеток происходит увеличение периодов генерируемых колебаний. Увеличение размеров клеток приводит также к увеличению вероятности возникновения Ca^{2+}-спайков и появления триггерных переключений. В присутствии Ach вероятность возникновения периодических режимов в клетках всех размеров значительно выше, чем при действии NE. Включение L-аргинина в среду инкубации приводит к увеличению периодов колебаний для обоих типов агонистов. Это особенно характерно для клеток малых и средних размеров (не показано).

Ca^{2+}-сигнализация в адипоцитах животных с ожирением и D2T. В культивируемых адипоцитах, выделенных из жировой ткани животных с ожирением, представленные на рисунке, г–к типы Ca^{2+}-ответов, исчезают. Основным типом ответов становится генерация Ca^{2+}-импульсов (рисунок, и), которая возможна только при больших концентрациях Ach или NE (20–30 мкМ). Это может свидетельствовать о наличии резистентности к Ach и NE у животных с ожирением, по крайней мере, применительно к жировой ткани.

Зрелые гипертрофированные адипоциты (S = 5000–10000 μm^2), выделенные из жировой ткани животных с D2T, имеют

очень малый объём свободной от липидов цитоплазмы (от 1 до 3–5 %, рисунок, в). В таких клетках в малом приядерном слое, в ответ на аппликацию больших концентраций агонистов Ach или NE, возможны импульсы Ca^{2+} малой амплитуды или медленный рост Ca^{2+} (рисунок, м).

Очевидно, что в обоих типах представленных клеток (при ожирении и при D2T) происходит дисрегуляция Ca^{2+}-сигнальных систем, связанная с отсутствием условий для формирования положительных обратных связей и генерации Ca^{2+}-колебаний с участием IP_3R или RyR. Такая дисрегуляция может быть связана с изменением профилей активности и экспрессии различных ферментов и Ca^{2+}-каналов основных Ca^{2+}-сигнальных путей адипоцитов: PLC/IP3/IP3R/ Ca^{2+}-сигнального пути и NO/cGMP/cADPr/RyR/ Ca^{2+}-сигнального пути.

Изменения в экспрессии генов при D2T. В табл. 3 представлены данные об экспрессии генов, контролирующих: ключевой фермент цикла Кребса и маркер активности митохондрий (CS); маркер разобщения дыхания митохондрий (UCP-1), а также ключевые ферменты и маркеры липогенеза (GPAT) и липолиза (HSL) и маркеры Ca^{2+}-сигнальных путей (IP_3R_3, RyR_2 и PKG1). В табл. 3 – PLC/IP_3/IP_3R/Ca^{2+}-сигнальный путь представлен в качестве маркера 3 подтипом IP_3R, а NO/cGMP/cADPr/RyR/Ca^{2+}-сигнальный путь представлен генами PKG1, CD38 и 2 подтипа рецептора RyR – RyR_2.

Таблица 3

Относительная экспрессия мРНК (ΔΔC) ключевых генов в клетках печени и жировой ткани животных с D2T по отношению к экспрессии этих генов у здоровых животных

	CS	GPAT	HSL	UCP1	CD38	PKG1	IP_3R_3	RyR_2
Печень	0,2	0,15	0,08	1,6	0,25	0,4	1,3	0,25
Жировая ткань	0,035	0,003	0,002	0,15	0,005	0,27	0,23	0,03

Примечание. В качестве опорного гена использован ген GAPDH. CS – цитратсинтаза; GPAT – глицерол-3-фосфат-ацилтрансфераза; HSL – гормон чувствительная липаза; UCP-1 – разобщающий дыхание белок; CD38 – АДФ-рибозилциклаза; PKG1 – протеинкиназа G, тип 1; IP3R3 – IP3-рецептор, тип 3; RyR – рианодиновый рецептор, тип 3.

В табл. 3 приведены относительные данные изменения экспрессии генов (мРНК) в гепатоцитах и адипоцитах животных с D2T по отношению к величинам их экспрессии у здоровых животных. Как следует из табл. 3, при D2T происходит 5–10-кратное уменьшение экспрессии мРНК CS, GPAT и HSL в печени, что отражает уменьшение количества митохондрий (CS) при увеличенном разобщении дыхания митохондрий (UCP1); уменьшение активности путей липогенеза (GPAT) и липолиза (HSL). На этом фоне имеет место уменьшение активности Ca^{2+}-сигнального пути с участием NO/cGMP/cADPr (уменьшение экспрессии генов CD38 и PKG1) при заметном увеличении активности IP_3-зависимого Ca^{2+}-сигнального пути (рост экспрессии гена IP_3R_3).

В клетках жировой ткани при D2T имеет место значительно более сильное уменьшение экспрессии генов (в десятки-сотни раз по сравнению с печенью), как метаболических (CS, GPAT, HSL) так и NO/cGMP/cADPr Ca^{2+}-сигнального пути (при сохранении достаточно высокой экспрессии гена PKG1). В отличие от печени, в жировой ткани экспрессия гена $IP3R_3$ также снижается. Однако такое снижение экспрессии гена IP_3R в (4–4,5 раза) выражено значительно меньше, чем уменьшение экспрессии гена RyR (в 30 раз). Наблюдаемое 10–20-кратное снижение экспрессии ключевых метаболических генов (CS, GPAT, HSL) в жировой ткани в сравнении с генами печени означает, что основные метаболические процессы в гипертрофированных адипоцитах (имеющих очень малый объем свободной цитоплазмы) практически подавлены. Основным путем энергопродукции в этих условиях, по-видимому, становится гликолиз, поскольку экспрессия опорного гена GAPDH, характеризующего гликолиз, снижается в 2–3 раза по сравнению с контролем и сравнима с его экспрессией в печени. Очевидно, что такие глобальные перестройки в экспрессии ключевых генов могут приводить к радикальным изменениям в профилях активности экспрессируемых белков, что должно отражаться в изменении условий функционирования (Ca^{2+}-ответы, рисунок) и регуляции Ca^{2+}-сигнальных путей адипоцитов.

Заключение

Дисфункция жировой ткани и дисреуляция Ca^{2+}-сигнальных и метаболических путей гипертрофированных адипоцитов при D2T могут быть связаны с подавлением экспрессии ключевых генов Ca^{2+}-сигнальных путей адипоцитов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума РАН (программа № 7, проект № 01201258223); ФНМ (проект № 01201256033).

Список литературы

1. Bays H.E., Laferrère B., Dixon J., Aronne L., González-Campoy J.M., Apovian C., Wolfe B.M. Int J Clin Pract. 2009. Vol. 63. No. 9. P. 1285-300. doi: 10.1111/j.1742-1241.

2. Berridge MJ. Biochim Biophys Acta. 2009. Vol. 1793. No. 6. P. 933-40. doi: 10.1016/j.bbamcr.2008.10.005.

3. Chakrabarti S.K., Wen Y., Dobrian A.D., Cole B.K., Ma Q., Pei H., Williams M.D., Bevard M.H., Vandenhoff G.E., Keller S.R., Gu J., Nadler J.L. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2011. Vol. 300. No. 1. P. E175-87. doi: 10.1152/ajpendo.00203.2010.

4. DeFronzo R.A. Diabetologia. 2010. Vol. 53. No. 7. P. 1270-87. doi: 10.1007/s00125-010-1684-1.

5. Festuccia W.T., Laplante M., Berthiaume M., Gélinas Y., Deshaies Y. Diabetologia. 2006. Vol. 49. No. 10. P. 2427–36.

6. Morino K., Petersen K.F., Shulman G.I. Diabetes. 2006. Suppl 2:S9-S15.

7. Moustafa A., Sakamoto K.Q., Habara Y. Nitric Oxide. 2011.Vol. 24. No. 3. P. 139–50. doi: 10.1016/j.niox.2011.02.001.

8. Prentki M., Glennon M.C., Thomas A.P., Morris R.L., Matschinsky F.M., Corkey B.E. J Biol Chem. 1988. Vol. 263. No. 23. P. 11044-7.

9. Rooney T.A., Sass E.J., Thomas A.P. J Biol Chem. 1989. Vol. 264. No. 29. P. 17131–41.

10. Turovsky E.A., Kaimachnikov N.P., Turovskaya M.V., Berezhnov A.V., Dynnik V.V., Zinchenko V.P. Two mechanisms of calcium oscillations in adipocytes. Biochemistry (Moscow). 2012. Vol. 6. No. 1. P. 26–34.

11. Turovsky E.A., Turovskaya M.V., Berezhnov A.V., Tolmacheva A.V., Kaimachnikov N.P., Dolgacheva L.P., Zinchenko V.P., Maevsky E.I., Dynnik V.V. Biochemistry (Moscow). Series A: Membrane and Cell Biology. 2012. Vol. 6. No. 1. P. 35–43.

12. Woods N.M., Cuthbertson K.S., Cobbold P.H. Nature. 1986. Vol. 319. No. 6054. P. 600–2.

References

1. Bays H.E., Laferrère B., Dixon J., Aronne L., González-Campoy J.M., Apovian C., Wolfe B.M. *Int J Clin Pract.* 2009. Vol. 63. No. 9. P. 1285-300. doi: 10.1111/j.1742–1241.

2. Berridge M.J. *Biochim Biophys Acta.* 2009. Vol. 1793. No. 6. pp. 933-40. doi: 10.1016/j.bbamcr.2008.10.005.

3. Chakrabarti S.K., Wen Y., Dobrian A.D., Cole B.K., Ma Q., Pei H., Williams M.D., Bevard M.H., Vandenhoff G.E., Keller S.R., Gu J., Nadler J.L. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011. Vol. 300. No. 1. pp. E175-87. doi: 10.1152/ajpendo.00203.2010.

4. DeFronzo R.A. *Diabetologia.* 2010. Vol. 53. No. 7. pp. 1270-87. doi: 10.1007/s00125-010-1684-1.

5. Festuccia W.T., Laplante M., Berthiaume M., Gélinas Y., Deshaies Y. *Diabetologia.* 2006. Vol. 49. No. 10. pp. 2427–36.

6. Morino K., Petersen K.F., Shulman G.I. *Diabetes.* 2006. Suppl 2:pp. 9–S15.

7. Moustafa A., Sakamoto K.Q., Habara Y. *Nitric Oxide.* 2011.Vol. 24. No. 3. pp. 139–50. doi: 10.1016/j.niox.2011.02.001.

8. Prentki M., Glennon M.C., Thomas A.P., Morris R.L., Matschinsky F.M., Corkey B.E. *J Biol Chem.* 1988. – Vol. 263. No. 23. pp. 11044–7.

9. Rooney T.A., Sass E.J., Thomas A.P. *J Biol Chem.* 1989. Vol. 264. No. 29. pp. 17131–41.

10. Turovsky E.A., Kaimachnikov N.P., Turovskaya M.V., Berezhnov A.V., Dynnik V.V., Zinchenko V.P. Two mechanisms of calcium oscillations in adipocytes. *Biochemistry (Moscow).* 2012. Vol. 6. No. 1. pp. 26–34.

11. Turovsky E.A., Turovskaya M.V., Berezhnov A.V., Tolmacheva A.V., Kaimachnikov N.P., Dolgacheva L.P., Zinchenko V.P., Maevsky E.I., Dynnik V.V. *Biochemistry (Moscow). Series A: Membrane and Cell Biology.* 2012. Vol. 6. No. 1. pp. 35–43.

12. Woods N.M., Cuthbertson K.S., Cobbold P.H. *Nature.* 1986. Vol. 319. No. 6054. pp. 600–2.

Рецензенты:

Маевский Е.И., д.м.н., профессор, зам. директора Учреждения Российской академии наук Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино;

Мошков Д.А., д.б.н., профессор, зав. лабораторией ультраструктуры нейрона Учреждения Российской академии наук Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино.

Работа поступила в редакцию 27.05.2013.