

УДК 577.3

ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ СИГНАЛЬНЫХ БЕЛКОВ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ, ВКУСОВОЙ И ФОТОТРАНСДУКЦИИ В БЕТА-КЛЕТКАХ ОСТРОВКОВ ЛАНГЕРГАНСА

© 2022 г. Ю. А. Ковалицкая¹, Н. П. Коваленко¹, М. Ф. Быстрова^{1,*}

¹ Институт биофизики клетки Российской академии наук,
обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки
“Федеральный исследовательский центр “Пушчинский научный центр биологических исследований РАН”
142290 г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3, Россия

*E-mail: marinabystrova@rambler.ru

Поступила в редакцию 13.09.2021 г.

После доработки 30.09.2021 г.

Принята к публикации 26.10.2021 г.

Вкусовая, обонятельная и зрительная сенсорные системы обеспечивают рецепцию и распознавание физических и химических стимулов, возникающих в окружающей среде. Экспрессия сигнальных белков, вовлеченных во вкусовую, обонятельную и фототрансдукцию, обнаружена в бета-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы млекопитающих, продуцирующих и секретирующих инсулин. Будучи впервые идентифицированными в обонятельных нейронах, вкусовых клетках, палочках и колбочках сетчатки, компоненты каскадов сенсорной трансдукции выполняют специфические функции в соответствующих сенсорных клетках. Роль этих молекул в физиологии бета-клеток до сих пор остается дискуссионной, а их экспрессия в отличие от экспрессии в специализированных сенсорных клетках носит не специфический, а эктопический характер. В настоящее время появились данные, показывающие, что сигнальные белки, вовлеченные в сенсорную трансдукцию, в бета-клетках могут участвовать в регуляции глюкозозависимой секреции инсулина. Обзор посвящен обобщению информации об экспрессии и функциональной активности элементов сенсорной трансдукции в бета-клетках млекопитающих, а также в модельных клеточных линиях инсулином мышей, крыс и хомяков, которые сохранили способность к синтезу и секреции инсулина.

Ключевые слова: бета-клетки, островки Лангерганса, секреция инсулина, эктопическая экспрессия, обонятельная трансдукция, вкусовая трансдукция, фототрансдукция

DOI: 10.31857/S0235009222010048

ВВЕДЕНИЕ

Вкусовая, обонятельная и зрительная системы обеспечивают рецепцию и распознавание физических и химических стимулов, возникающих в окружающей среде. В настоящее время экспрессия некоторых компонентов сигнальных каскадов вкусовой, обонятельной и фототрансдукции обнаружена в тканях и органах, не относящихся к сенсорным системам, в том числе в бета-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы млекопитающих, синтезирующих и секретирующих инсулин. В отличие от экспрессии в специализированных рецепторных клетках сенсорных систем экспрессия компонентов вкусовой, обонятельной и фототрансдукции в бета-клетках носит не специфический, а эктопический характер. Хотя все клетки многоклеточного организма содержат одинаковый набор генов, их отличие друг от друга, определяющее функциональную специ-

ализацию каждой клетки, зависит от того, какие именно гены они экспрессируют. Экспрессия генов в многоклеточном организме находится под строгим контролем, который обеспечивает соответствие профиля транскриптов генов в каждой клетке ее функциональному статусу. Термин “эктопическая” определяет экспрессию гена в тех клетках, где кодируемый им белок не может выполнять известную для него специфическую функцию (Rodriguez-Trelles et al., 2005). Элементы трансдукции сигналов вкусовой, обонятельной и зрительной систем могут выполнять специфические сигнальные функции только будучи локализованными во вкусовых клетках, обонятельных нейронах, палочках и колбочках сетчатки. Роль этих молекул в физиологии бета-клеток до сих пор остается не до конца исследованной, однако она должна быть отлична от той, которую они играют в специфических сигнальных каскадах сен-

сорных клеток. В настоящее время появились данные, подтверждающие функциональную активность выявленных элементов сигнальных каскадов сенсорных систем в бета-клетках островков Лангерганса, а именно их участие в регуляции глюкозозависимой секреции инсулина. В обзоре дается краткое описание специфических сигнальных каскадов, функционирующих в специализированных сенсорных клетках вкусовой, обонятельной и зрительной систем. Затем представлена информация об экспрессии и возможной функциональной роли этих компонентов в бета-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы млекопитающих, а также в модельных клеточных линиях инсулином мышей, крыс и хомяков, которые сохраняют способность к синтезу и глюкозозависимой секреции инсулина.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ БЕТА-КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Сахарный диабет – метаболическое заболевание, характеризующееся хронической гипергликемией, развивающейся вследствие нехватки инсулина (сахарный диабет I-го типа) или появления резистентности клеток-реципиентов к гормону, который вырабатывается бета-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы (сахарный диабет II-го типа). По данным Всемирной организации здравоохранения за 2020 г. 422 млн человек во всем мире (около 7% населения) страдают от сахарного диабета, в основном второго типа. С конца 90-х годов прошлого века началось интенсивное изучение механизмов регуляции секреции инсулина и сигнальных каскадов, запускаемых при взаимодействии инсулина со специфическим рецептором. Особое внимание уделяется исследованиям молекулярных механизмов глюкозозависимой секреции инсулина бета-клетками островков Лангерганса поджелудочной железы.

Поджелудочная железа – это орган одновременно эндокринной и экзокринной систем. В состав железы входят ацинусы – образования, которые синтезируют и секретируют в протоки ферменты метаболизма белков, жиров и углеводов, и островки Лангерганса, обеспечивающие секрецию в кровь различных пептидных гормонов. Островки состоят из пяти типов клеток: бета-клетки (65–90%) секретируют инсулин; альфа-клетки (15–20%) – глюкагон; дельта-клетки (3–10%) – соматостатин; ПП-клетки (1%) – панкреатический полипептид; эпсилон клетки (1%) синтезируют греллин (Elayat et al., 1995; Da Silva Xavier, 2018). Островки Лангерганса человека и мышей различаются по своей пространственной организации, расположению и соотношению типов клеток (Dolensek et al., 2015). Микроархитектура островков мыши получила условное назва-

ние “модель ядро-мантия”: в центре островка находятся бета-клетки, а остальные типы клеток локализованы в мантийном слое на периферии островка. У человека наиболее часто встречаются следующие модели пространственной организации островков: бета-клетки образуют кластер в виде ленты; бета-клетки беспорядочно расположены по островку; модель “сэндвич”, которая состоит из двух тяжёлых альфа-клеток и одного бета-клеток, “сэндвич” свернут в виде подковы или замкнут в круг. Постоянный уровень глюкозы в плазме поддерживается за счет базовой секреции инсулина. При увеличении концентрации глюкозы в плазме, например, после еды, происходит глюкозозависимая секреция инсулина. Глюкоза попадает в бета-клетки через транспортер глюкозы на плазматической мембране. В клетке глюкокиназа фосфорилирует глюкозу и она подвергается гликолизу, в результате чего в цитоплазме из одной молекулы глюкозы образуются две молекулы пирувата. Взаимодействие пирувата с пируватдегидрогеназой приводит к образованию АТФ в дыхательной цепи. Увеличение отношения АТФ/АДФ инициирует ингибирование АТФ-зависимых K^+ -каналов (КАТФ-каналы), функционирующих в бета-клетках, что приводит к деполаризации их плазматической мембраны. Деполаризация мембраны приводит к открытию потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов L-типа, обеспечивающих входящий ток ионов Ca^{2+} . Рост уровня Ca^{2+} в цитозоле увеличивает скорость экзоцитоза инсулина бета-клетками (Komatsu et al., 2013). Таким образом, активация глюкозозависимой секреции инсулина бета-клетками запускается закрытием АТФ-чувствительных КАТФ-каналов в ответ на увеличение соотношения внутриклеточного уровня АТФ/АДФ, индуцированного метаболизмом глюкозы, в результате повышения концентрации глюкозы в плазме крови. Поэтому считается, что КАТФ-зависимый путь внутриклеточной сигнализации является основным механизмом запуска глюкозозависимой секреции инсулина. Кроме того, есть гипотезы о возможности существования КАТФ-независимого пути секреции инсулина в ответ на повышение уровня глюкозы в плазме (Komatsu et al., 2013).

Механизм секреции инсулина в ответ на повышение уровня глюкозы в крови – объект пристального изучения ученых и фармакологов во всем мире. Однако выделение и поддержание культуры первичных бета-клеток в достаточном количестве для проведения необходимых исследований – непростая задача. Поэтому в экспериментах часто используют культуральные клеточные линии инсулином мышей (MIN6, β TC-1, β TC-3), крыс (INS-1, RINm5F) и хомяков (HIT-T15), которые сохранили способность к синтезу и секреции инсулина (Miyazaki et al., 1990, Ishihara et al., 1993).

СИГНАЛЬНЫЕ БЕЛКИ, ВОВЛЕЧЕННЫЕ ВО ВКУСОВУЮ РЕЦЕПЦИЮ

Вкусковая хемосенсорная система отвечает за рецепцию и распознавание молекул, определяющих вкус. Она представлена периферическим (вкусовые почки), проводящим (волокна нейронов) и центральным (головной мозг) отделами. Экспериментально у млекопитающих выделено пять основных вкусовых ощущений: горький, сладкий, кислый, соленый и вкус аминокислот (умами). Рецепцию вкусовых стимулов осуществляют вкусовые клетки трех типов (I, II и III). Конгломерат из 50–100 вкусовых клеток образует вкусовую почку. Вкусовые почки входят в состав специализированных образований – грибовидных, листовидных и желобоватых вкусовых сосочков языка. Вкусовые клетки I-го типа составляют примерно половину всех вкусовых клеток почки (Roper, Chaudhari, 2017). В них обнаружена экспрессия эпителиальных натриевых каналов ENaC, и поэтому считается, что они вовлечены в рецепцию соленых веществ. Вкусовые клетки II-го типа осуществляют детекцию сладких и горьких соединений, а также аминокислот. Содержание клеток II-го типа во вкусовой почке варьирует в пределах 30–40% (Roper, Chaudhari, 2017). Каждая вкусовая клетка II-го типа ответственна за детекцию стимулов только одной модальности: горького, сладкого или умами (Zhang et al., 2003). Клетки III-го типа составляют 2–20% (Roper, Chaudhari, 2017) от популяции вкусовых клеток в почке, они участвуют в рецепции кислых и соленых соединений. Это единственные вкусовые клетки, образующие классические синапсы с афферентными окончаниями вкусового нерва.

Трансдукция сигнала – это процесс, в ходе которого происходит распознавание внешнего стимула и его перекодирование во внутриклеточный сигнал, приводящий к специфическому клеточному ответу. Вкусковая трансдукция – это совокупность событий от молекулярного узнавания вкусового вещества на апикальной мембране вкусовой клетки до выброса афферентного нейромедиатора, кодирующего сенсорную информацию. Во вкусовых клетках второго типа детекция вкусовых стимулов обеспечивается вкусовыми рецепторами, которые образуют два семейства. Рецепторы семейства T1R детектируют сладкие стимулы и аминокислоты, а рецепторы семейства T2R вовлечены в распознавание горьких веществ. Семейство рецепторов T1R состоит из трех представителей – T1R1, T1R2 и T1R3. Эти белки во вкусовых клетках II-го типа образуют функциональные гетеродимеры: T1R2/T1R3 – рецептор сладких веществ, T1R1/T1R3 – рецептор вкуса аминокислот. Семейство рецепторных белков T2R более обширно и включает до 30 представителей у

разных видов животных. Впервые они были описаны в 2000 г. (Adler et al., 2000).

Рецепторные белки T1R и T2R относятся к семейству рецепторов, сопряженных с G-белками (GPCR). Гетеротримерный G-белок состоит из α -, β - и γ -субъединиц. Специфичность взаимодействия G-белка с активированным GPCR-рецептором определяется α -субъединицей. При активации GPCR-рецептора происходит распад гетеротримера на α -субъединицу и $\beta\gamma$ -комплекс. Во вкусовых клетках II-го типа α -субъединица G-белка представлена α -гастдуцином, а $\beta\gamma$ -комплекс состоит из специфических для вкусовой ткани субъединиц $G_{\gamma 13}$ и $G_{\beta 1}$ (Rossler et al., 1998). Ген, кодирующий гастдуцин, входит в одно семейство с генами трансдуцина колбочек и трансдуцина палочек сетчатки. Во вкусовой ткани гастдуцин является специфическим маркером вкусовых клеток II-го типа. При помощи иммуногистохимии гастдуцин был обнаружен в клетках II-го типа во вкусовых почках желобоватого и грибовидного сосочков языка (Kim et al., 2003). Установлено, что гастдуцин участвует в трансдукции горьких и сладких стимулов (Wong et al., 1996). Интересно, что гастдуцин экспрессируется только в отдельной субпопуляции, а не во всех клетках II-го типа (Caicedo, 2003).

После диссоциации гетеротримерного G-белка комплекс субъединиц $G_{\gamma 13}G_{\beta 1}$ активирует фосфолипазу C $\beta 2$ (PLC $\beta 2$) (Rossler et al., 1998), катализирующую гидролиз PIP2 (phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate) на два медиатора: IP3 (inositol 1,4,5-triphosphate) и DAG (diacylglycerol). Вторичный посредник IP3 взаимодействует с рецептором IP3R3, который является лиганд-активируемым Ca^{2+} -каналом на эндоплазматическом ретикулуме. Увеличение уровня внутриклеточного кальция активирует ионные каналы TRPM5, открытие которых обеспечивает входящий ток ионов натрия, что приводит к генерации градуального рецепторного потенциала, деполяризующего клетку (Liman, 2007). Деполяризация цитоплазматической мембраны активирует потенциал-зависимые Na^+ -каналы и генерирует потенциал действия, приводящий к открытию потенциал-зависимых АТФ-проницаемых каналов и секреции АТФ вкусовыми клетками II-го типа (Romanov et al., 2008).

В последние годы появились данные, указывающие на существование еще одного базового вкуса млекопитающих. Это вкус ненасыщенных жирных кислот. За рецепцию этого вкуса отвечает небольшая популяция вкусовых клеток II-го типа, в которых выявлена экспрессия транслокатора жирных кислот CD36 и GPCR-рецепторов GPR40 и GPR120. Они рассматриваются как сенсорные элементы, определяющие содержание ненасы-

ценных жирных кислот в пище (Ichimura et al., 2014). Обнаружено, что у животных с инактивацией экспрессии генов, кодирующих CD36, GPR120 и GPR40, теряется предпочтение к пище, обогащенной жирными кислотами (Ozdener et al., 2014).

ЭКСПРЕССИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ВКУСОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ИНСУЛИН-СЕКРЕТИРУЮЩИХ КЛЕТКАХ

В настоящее время установлено, что некоторые компоненты сигнальных каскадов вкусовой рецепции экспрессируются в бета-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы млекопитающих и в культуральных клетках инсулином, сохранивших способность секретировать инсулин. Наибольшее количество работ посвящено исследованию экспрессии вкусовых рецепторов семейства T1R, поскольку глюкоза, обладающая сладким вкусом, стимулирует секрецию инсулина бета-клетками. Впервые Накагава и соавт. обнаружили мРНК T1R2 и T1R3 в клетках мышинной инсулиномы MIN6 и в островках поджелудочной железы мышей, причем в островках уровень экспрессии был существенно ниже. На уровне белка в клетках MIN6 экспрессия была подтверждена при помощи иммуноцитохимических методов, при этом интенсивность сигнала для T1R3 была существенно выше, чем для T1R2. Однако при иммунофлуоресцентном анализе срезов поджелудочной железы мышей в инсулин-содержащих бета-клетках был обнаружен только T1R3, а T1R2 не детектирован (Nakagawa et al., 2009; Medina et al., 2014). Количественная оценка при помощи ОТ-ПЦР в реальном времени показала, что уровень экспрессии гена *T1R2* в островках поджелудочной железы мышей составляет менее 1% от уровня экспрессии *T1R3* (Medina et al., 2014). Кириази и соавт. детектировали мРНК обоих вкусовых рецепторов T1R2 и T1R3 в островках поджелудочной железы мышей и в островках поджелудочной железы человека, а также в клетках MIN6 (Kyriazis et al., 2012). Недавно Удагава и соавт. выявили мРНК транскрипты рецепторов T1R3 в островках мышей и крыс и в клеточных линиях MIN6 и INS-1, транскрипты T1R1 везде кроме островков, а экспрессия T1R2 не была обнаружена ни в одном из образцов (Udagawa et al., 2020). Таким образом, данные об экспрессии вкусовых рецепторов семейства T1R в инсулин-продуцирующих клетках остаются противоречивыми.

Функциональные исследования показали, что искусственные подсластители, являющиеся агонистами рецепторов сладкого вкуса во вкусовых клетках, сами по себе вызывают секрецию инсулина, а также усиливают глюкозозависимую секрецию инсулина в клетках MIN6 и в островках

(Nakagawa et al., 2009; 2014). В клетках MIN6 сукралоза стимулировала секрецию инсулина при низкой концентрации глюкозы 3 мМ, но не в присутствии 25 мМ глюкозы. Однако искусственные подсластители сахарин и ацесульфам калия усиливали секрецию инсулина, индуцированную 25 мМ глюкозы, в клетках MIN6. Сукралоза также стимулировала секрецию инсулина при низкой концентрации глюкозы в мышинных островках (Nakagawa et al., 2009). Стимулирующее действие фруктозы на глюкозозависимую секрецию инсулина было обнаружено в островках поджелудочной железы мышей и в островках поджелудочной железы человека (Kyriazis et al., 2012). Эти данные позволили сделать вывод о функциональной активности рецептора сладкого вкуса в бета-клетках и об его участии в регуляции глюкозозависимой секреции инсулина. Остается вопрос, какие вещества являются лигандами вкусовых рецепторов в инсулин-секретирующих клетках? Очевидным кандидатом в лиганды этих рецепторов в бета-клетках является глюкоза. Однако глюкозозависимая секреция инсулина обусловлена метаболизмом глюкозы. Накагава и соавт. предположили, что, взаимодействуя с рецептором T1R3, глюкоза способна активировать свой собственный метаболизм (Nakagawa et al., 2014). Учитывая, что рецепторы сладкого вкуса активируются соединениями, имеющими разную химическую структуру, также была выдвинута гипотеза, что, помимо глюкозы у них есть какие-то эндогенные лиганды и что эти лиганды способны модулировать функциональное состояние бета-клеток, взаимодействуя с вкусовыми рецепторами (Nakagawa et al., 2009).

При изучении действия четырех подсластителей — сукралозы, сахарина, ацесульфама калия и глицирризина обнаружено, что они индуцировали в клетках инсулиномы мышей MIN6 различные внутриклеточные ответы (Nakagawa et al., 2013). Ацесульфам калия и сукралоза вызывали повышение внутриклеточного уровня ионов Ca^{2+} и цАМФ. Глицирризин вызывал повышение внутриклеточного уровня ионов Ca^{2+} , но не влиял на уровень цАМФ, а сахарин индуцировал повышение уровня цАМФ, но не увеличивал уровень ионов Ca^{2+} . Эффекты ацесульфама калия и сукралозы отличались, несмотря на то, что они одинаково влияли на уровень внутриклеточного Ca^{2+} и цАМФ. Антагонист рецептора сладкого вкуса гурмарин, блокирующий гаструцинзависимый сигнальный путь во вкусовых клетках, и ингибитор G_q YM254890 подавляли повышение уровня ионов Ca^{2+} , вызванное сукралозой, но не влияли на Ca^{2+} -ответ, индуцированный ацесульфамом калия. Эти данные позволили предположить, что четыре искусственных подсластителя активируют различные сигнальные каскады в ин-

сулин-продуцирующих клетках (Nakagawa et al., 2013).

Во вкусовых клетках функциональный рецептор сладкого вкуса представляет собой гетеродимер T1R2/T1R3. По поводу существования такого гетеродимера в бета-клетках существуют различные точки зрения. Кириазис и соавт. предполагают, что в бета-клетках функциональный рецептор представлен гетеродимером T1R2/T1R3, как и во вкусовых клетках. Авторы обнаружили в бета-клетках экспрессию мРНК обоих генов *T1R2* и *T1R3*. Затем при помощи физиологических экспериментов им удалось получить доказательства участия обоих рецепторов T1R2 и T1R3 в детекции природного моносахарида фруктозы в бета-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы мышей. Если в островках мышей дикого типа фруктоза вызывала повышение внутриклеточного уровня ионов Ca^{2+} и усиление индуцированной глюкозой секреции инсулина, то в островках мышей с нокаутом гена *T1R2* (*T1R2*^{-/-}) таких эффектов при действии фруктозы не наблюдалось. В изолированных островках поджелудочной железы человека фруктоза тоже вызывала усиление секреции инсулина, стимулированной глюкозой. При ингибировании рецептора T1R3 лактизолем реакция на фруктозу в островках поджелудочной железы человека отсутствовала. На основании проведенных экспериментов было предположено участие гетеродимера рецепторов T1R2/T1R3 в детекции фруктозы в бета-клетках островков поджелудочной железы (Kujawski et al., 2012).

Существует также гипотеза, что в бета-клетках может функционировать гомодимер рецептора T1R3. Для оценки участия каждого из рецепторов T1R2 и T1R3 в передаче сигналов подсластителей в клетках MIN6 при помощи мРНК подавлялась экспрессия либо *T1R2*, либо *T1R3*. При уменьшении экспрессии *T1R2* все эффекты, вызываемые подсластителями в клетках MIN6, сохранялись, в то время как нокаут *T1R3* эти эффекты блокировал (Nakagawa et al., 2014). Эти данные дают основание предположить, что гомодимер T1R3/T1R3 может функционировать в бета-клетках в качестве рецептора, детектирующего сладкие соединения.

Нельзя исключить, однако, гетеродимеризацию T1R3 с каким-то GPCR-рецептором, не относящимся к семейству T1R. Такой гетеродимер может формировать, например, T1R3 и рецептор экстраклеточного кальция CaSR (Kojima et al., 2017). Во-первых, известно, что CaSR экспрессируется в бета-клетках поджелудочной железы (Bruce et al., 1999; Tang et al., 2016). Во-вторых, обнаружено, что при гетерологической экспрессии в клетках HEK-293 CaSR активировался глюко-

зой в физиологических концентрациях, а также натуральными и искусственными подсластителями (Medina et al., 2016). При гетерологической экспрессии рекомбинантных T1R3 и CaSR в клетках HEK-293 глюкоза индуцировала повышение внутриклеточного уровня кальция. Этот эффект не зависел от метаболизма глюкозы и воспроизводился при замене глюкозы ее неметаболизируемым аналогом 3-О-метил-D-глюкозы. В бета-клетках и клетках MIN6 действие 3-О-метил-D-глюкозы блокировалось как ингибитором рецептора T1R3 лактизолом, так и ингибитором рецептора CaSR NPS-2143, что свидетельствует об участии обоих рецепторов в детекции 3-О-метил-D-глюкозы. Таким образом, было предположено, что гетеродимер T1R3/CaSR может выполнять в бета-клетках роль функционального рецептора, детектирующего сладкие соединения (Kojima et al., 2017).

Исследование островков поджелудочной железы мышей в состоянии натощак и островков поджелудочной железы мышей после приема пищи, а также островков мышей и островков крыс с модельным сахарным диабетом и ожирением показали, что уровень экспрессии рецептора T1R3 зависит от условий питания и метаболического состояния животных (Medina et al., 2014). При помощи иммуноблоттинга и иммуногистохимии обнаружено, что после приема пищи в островках мышей уровень T1R3 значительно снижен (примерно на 80%) по сравнению с островками голодных мышей. Такое снижение наблюдалось уже через 4 ч после начала кормления. Однако при количественной оценке в этих же группах мышей уровни экспрессии мРНК T1R3 в островках различались не существенно. Таким образом, изменение содержания T1R3 в островках мышей в зависимости от приема пищи происходит достаточно быстро и регулируется, возможно, за счет ускорения деградации белка T1R3. Учитывая данные, показывающие, что в бета-клетках T1R3 вовлечен в модуляцию метаболизма самой глюкозы (Nakagawa et al., 2014), было предположено, что скорость метаболизма глюкозы в зависимости от питания может регулироваться путем изменения содержания T1R3. Соответственно, у голодных мышей потребность в источнике энергии выше, чем у сытых мышей, поэтому у голодных мышей наблюдается более высокий уровень T1R3 для ускорения метаболизма глюкозы (Medina et al., 2014). Кроме того, уровень секреции инсулина, индуцированной глюкозой, в островках голодных мышей выше, чем в островках сытых мышей. Антагонист рецептора T1R3 гурмарин вызывал снижение вызванной глюкозой секреции инсулина в островках и голодных, и сытых мышей. В островках голодных мышей с высоким уровнем экс-

прессии T1R3 секреция инсулина снижалась более существенно, что можно объяснить модулирующим действием T1R3 на секрецию инсулина. Полученные результаты свидетельствуют о том, что глюкозозависимая секреция инсулина в бета-клетках зависит от условий питания и в ее регуляцию вовлечен T1R3. Соответственно, уровень экспрессии T1R3 колеблется в течение дня, повышаясь в состоянии натощак и понижаясь после приема пищи. Пониженный уровень экспрессии T1R3 также был обнаружен в островках мышей и крыс с модельным сахарным диабетом и ожирением. Необходимо отметить, что у животных с модельным сахарным диабетом изменение экспрессии T1R3 происходит на уровне транскрипции, поскольку было установлено снижение уровней мРНК и белка. Снижение экспрессии T1R3 связано, очевидно, с гипергликемией, развивающейся у больных животных, поскольку введение инсулина в течение семи дней крысам с модельным сахарным диабетом приводило к устранению гипергликемии и восстановлению уровня экспрессии T1R3 (Medina et al., 2014). Эти данные согласуются с исследованиями (Kyriazis et al., 2014), в которых установлен пониженный уровень экспрессии генов *T1R2* и *T1R3* в островках поджелудочной железы мышей, находящихся в условиях экспериментальной гипергликемии, и в островках поджелудочной железы мышей с модельным сахарным диабетом или ожирением, у которых развивается состояние гипергликемии (Kyriazis et al., 2014).

Кроме рецепторов сладких соединений, в инсулин-синтезирующих клетках MIN6 обнаружен функциональный рецептор вкуса аминокислот, который представлен во вкусовых клетках гетеродимером T1R1/T1R3 (Oya et al., 2011). При помощи ОТ-ПЦР анализа в MIN6 были обнаружены мРНК транскрипты рецепторов T1R1 и T1R3, и экспрессия T1R1 на уровне белка подтверждена методом иммуноблоттинга. Иммуноцитохимический анализ показал, что белки T1R1 и T1R3 локализованы на цитоплазматической мембране и, следовательно, могут функционировать как поверхностные рецепторы аминокислот в клетках MIN6. В этой связи следует отметить, что аминокислоты L-глутамат, L-аргинин и L-лейцин вызывают в клетках MIN6 повышение внутриклеточного содержания IP3 и ионов Ca^{2+} дозозависимым образом, а также индуцируют глюкозозависимую секрецию инсулина (Oya et al., 2011). Инозинмонофосфат усиливал эффекты, вызываемые аминокислотами, указывая на участие T1R1 в детекции аминокислот в клетках MIN6. Антагонист рецептора T1R3 лактизол подавлял все эффекты, вызываемые аминокислотами в клетках MIN6. Эти данные дают основания предположить, что гете-

родимер T1R1/T1R3 выполняет роль рецептора аминокислот в инсулин-продуцирующих клетках и может участвовать в регуляции глюкозозависимой секреции инсулина (Oya et al., 2011). Интересными представляются результаты недавних исследований функциональной роли T1R3, выполненных с использованием нокаутных мышей (Murovets et al., 2019), у которых наблюдалось уменьшение размера и плотности островков в поджелудочной железе. Кроме того, было выявлено снижение уровня экспрессии каспазы-3. Таким образом, нокаут гена, кодирующего T1R3, приводил к дистрофии ткани островков, сопровождаемой патологическими изменениями, которые ассоциируются с диабетом второго типа и ожирением у людей, что позволило авторам считать T1R3 перспективной терапевтической мишенью при создании препаратов для лечения патологий метаболизма (Murovets et al., 2019).

ЭКСПРЕССИЯ КОМПОНЕНТОВ ВКУСОВОЙ ТРАНСДУКЦИИ В БЕТА-КЛЕТКАХ

Кроме вкусовых рецепторов в бета-клетках исследовалась экспрессия специфического G-белка вкусового сигнального каскада гастдуцина. Полученные данные оказались противоречивыми. Например, экспрессия гастдуцина была выявлена в клетках инсулиномы MIN6 (Nakagawa et al., 2009; Oya et al., 2011) и в островках поджелудочной железы мышей (Nakagawa et al., 2009) при помощи ОТ-ПЦР анализа. Накагава и соавт. предположили, что рецепторы семейства T1R в бета-клетках сопряжены с гастдуцином, поскольку антагонист рецептора сладкого гурмарин, блокирующий гастдуцинзависимый сигнальный путь во вкусовых клетках (Shigemura et al., 2008), подавлял Ca^{2+} -ответ на сукралозу в клетках MIN6 (Nakagawa et al., 2009). Дальнейшие исследования показали, что Ca^{2+} -ответ на искусственные подсластители ацесульфам калия и глицеризин в клетках MIN6 не блокируется гурмаринном (Nakagawa et al., 2013). При количественной оценке экспрессии различных G-белков в клетках MIN6 обнаружен крайне низкий уровень экспрессии гастдуцина по сравнению с G_s , G_i , G_o и $G_{q/11}$. Например, он составлял менее 0.01% относительно уровня экспрессии G_q . Нокдаун гастдуцина, полученный с использованием малых интерферирующих РНК, не оказывал влияния на Ca^{2+} -ответы клеток MIN6 на сукралозу, ацесульфам калия и глицеризин. Поэтому в конечном итоге авторы пришли к заключению, что гастдуцин не участвует в сигнальных каскадах, индуцируемых подсластителями в клетках инсулиномы мышей MIN6 (Nakagawa et al., 2013).

Недавно Удагава и соавт. (Udagawa et al., 2020) обнаружили мРНК гастдуцина в островках поджелудочной железы крыс и мышей, и в клеточных линиях INS-1 и MIN6. Экспрессия гастдуцина была подтверждена на уровне белка при помощи иммуноблот-анализа. В клетках INS-1 с нокдауном гастдуцина, вызванным применением малых интерферирующих РНК, наблюдалось повышение уровней цАМФ и Ca^{2+} по сравнению с контрольными клетками дикого типа. Кроме того, нокдаун гастдуцина приводил к повышению базальной секреции инсулина при низкой концентрации глюкозы (3 мМ). Однако при высоких концентрациях глюкозы (10 мМ и 25 мМ) уровень секреции инсулина не изменялся в клетках с нокдауном гастдуцина, по сравнению с диким типом. Нокдаун гастдуцина не влиял и на глюкозозависимую секрецию инсулина, индуцированную агонистом рецептора сладкого вкуса сукралозой. В итоге Удагава и соавт. пришли к выводу, что в бета-клетках гастдуцин не сопряжен с вкусовыми рецепторами, а вовлечен в модуляцию базальной секреции инсулина посредством увеличения уровней цАМФ и внутриклеточного кальция (Udagawa et al., 2020).

В островках поджелудочной железы мышей с модельным диабетом и мышей, питающихся кормом с высоким содержанием жиров, отмечено снижение уровня экспрессии гастдуцина по сравнению с островками поджелудочной железы контрольных групп животных. На основании этих данных было сделано предположение, что гастдуцин может быть вовлечен в патогенез сахарного диабета (Udagawa et al., 2020).

Во вкусовых клетках второго типа вкусовые рецепторы сопряжены с классическим фосфоинозитидным каскадом, ключевым эффектором которого является фосфолипаза PLC β 2. Представители подгруппы β семейства фосфолипаз PLC активируются G-белками. PLC β 2 обнаружена при помощи иммуноблот-анализа в островках поджелудочной железы крыс и в клеточных линиях инсулином INS-1 и β G40/110 (Gasa et al., 1999). Экспрессия транскриптов мРНК PLC β 2 детектирована в клеточной линии инсулиномы мышей MIN6 и в островках поджелудочной железы мышей с применением метода ОТ-ПЦР в реальном времени (Kyriazis et al., 2012). Однако необходимо отметить, что данные относительно экспрессии PLC β 2 противоречивы, поскольку в ряде работ экспрессия PLC β 2 не была обнаружена в клетках MIN6, в островках поджелудочной железы мышей и крыс (Kim et al., 2001a; 2001b; Fiume et al., 2012; Hwang et al., 2019). Тем не менее данные функциональных исследований свидетельствуют о том, что какая-то фосфолипаза из группы PLC вовлечена в сигнальные каскады в бета-клетках

поджелудочной железы. Например, было обнаружено, что антагонист IP3-рецепторов 2-APB блокирует Ca^{2+} -ответ и снижает цАМФ-ответ на сукралозу в клетках MIN6 (Nakagawa et al., 2009). Это свидетельствует об активации PLC, поскольку мишенью вторичного посредника IP3, продуцируемого PLC, являются IP3-рецепторы. Ингибитор PLC U73122 значительно снижал Ca^{2+} -ответы на подсластители в клетках MIN6 и в бета-клетках островков поджелудочной железы мышей, в то время как его неактивный аналог U73343 не оказывал влияния на эти ответы (Kyriazis et al., 2012; Nakagawa et al., 2013). Ингибирование PLC также приводило к снижению глюкозозависимой секреции инсулина, индуцированной фруктозой, в клетках островков Лангерганса мышей (Kyriazis et al., 2012). Эти данные дают основания полагать, что фосфолипазы PLC вовлечены в сигнальные каскады в бета-клетках.

Экспрессия рецептора IP3R3, который является компонентом вкусового сигнального каскада, обнаружена на уровне мРНК и белка в островках поджелудочной железы крыс и мышей, а также в культурах инсулином крыс, мышей и хомяков (RINm5, INS-1, β HC9, HIT-T15) (Blondel et al., 1993; 1994; Swatton et al., 1999; Rosker et al., 2009; Li, Zhang, 2009; Lee et al., 1998; Lee, Laychock, 2001). Транскрипты IP3R3 были выявлены при анализе данных RNA-seq бета-клеток поджелудочной железы человека (Nordenskjöld et al., 2020). Культивирование клеток инсулином крыс RINm5F и мышей β HC9 в условиях высокой концентрации глюкозы (25 мМ) вызывало в них повышение уровня экспрессии IP3R3 (Blondel et al., 1994; Lee et al., 1998). Также повышение уровня IP3R3 наблюдалось у крыс при развитии гипергликемии. Учитывая, что глюкоза является основным индуктором секреции инсулина, авторы высказали предположение, что IP3R3 участвует в регуляции секреции инсулина, обеспечивая мобилизацию внутриклеточного кальция (Blondel et al., 1994).

Компонент вкусового сигнального каскада катионный канал TRPM5 обнаружен при помощи ОТ-ПЦР анализа в островках поджелудочной железы мышей и человека, в культуральных клетках инсулином мышей MIN6 и крыс INS-1 (Prawitt et al., 2003; Colsooul et al., 2010; Kyriazis et al., 2012). В одной из работ экспрессию мРНК TRPM5 в MIN6 не удалось обнаружить (Nakagawa et al., 2009). На уровне белка колокализация TRPM5 и инсулина была выявлена на срезах островков поджелудочной железы мышей с использованием флуоресцентной иммуногистохимии (Colsooul et al., 2010). Результаты сравнительного анализа ионных токов в одиночных клетках, выделенных из островков мышей дикого типа и с нокаутом гена

TRPM5, показали, что *TRPM5* является важным компонентом кальций-активированных катионных токов в бета-клетках. *TRPM5* определяет частоту кальциевых осцилляций, индуцированных глюкозой в бета-клетках. У мышей с нокаутом *TRPM5* были обнаружены изменения в толерантности к глюкозе и снижении уровня глюкозозависимой секреции инсулина бета-клетками (Colsoul et al., 2010). Эти данные позволили выдвинуть гипотезу об участии *TRPM5* в регуляции секреции инсулина (Brixel et al., 2010; Colsoul et al., 2010). Натуральные подсластители стевииолосые гликозиды обладают способностью потенцировать активность канала *TRPM5*. Было показано, что они также увеличивают секрецию инсулина, индуцированную глюкозой, в островках мышей дикого типа, но не в островках животных с нокаутированным геном *TRPM5*. Ежедневное добавление в пищу мышей стевииолосых гликозидов препятствовало развитию у них диабетической гипергликемии, вызванной высококалорийной диетой. Однако у мышей с нокаутом *TRPM5* этот эффект не наблюдался. Полученные результаты позволили авторам рассматривать *TRPM5* как перспективную фармакологическую мишень для предотвращения и лечения диабета второго типа (Philippaert et al., 2017).

В островках поджелудочной железы мышей с модельным диабетом (гаплотипы *db/db* и *ob/ob*) наблюдалось снижение уровня экспрессии транскриптов *TRPM5* по сравнению с контрольными животными. Мыши с модельным диабетом характеризуются дефицитом лептина (*ob/ob*) или дефицитом рецептора лептина (*db/db*), вследствие чего у них развиваются ожирение, гиперинсулинемия и гипергликемия. При изучении эффектов каждого из этих факторов было установлено, что снижение экспрессии *TRPM5* в островках поджелудочной железы таких мышей связано с повышенным уровнем инсулина. Таким образом, инсулинозависимое подавление экспрессии *TRPM5* является компенсаторным механизмом для предотвращения чрезмерной секреции инсулина при развитии сахарного диабета (Colsoul et al., 2014).

За рецепцию вкуса ненасыщенных жирных кислот во вкусовых клетках второго типа отвечают транслокатор *CD36* и рецепторы *GPR40* и *GPR120*. Свободные жирные кислоты играют важную роль в физиологии бета-клеток поджелудочной железы. При нормальных физиологических условиях они поддерживают базальный уровень секреции инсулина при голодании и резко потенцируют секрецию в присутствии глюкозы. Однако повышение концентрации жирных кислот в течение длительного времени имеет негативное влияние на бета-клетки. Этот феномен

назван липотоксичностью. Повышение уровня свободных жирных кислот в кровотоке крыс с ожирением приводило к функциональным нарушениям в бета-клетках, их апоптозу и развитию диабета. Экспрессия транслокатора жирных кислот *CD36* обнаружена в островках поджелудочной железы человека и в клеточных линиях *MIN6* и *INS-1* при помощи ОТ-ПЦР анализа, иммуноблот-анализа и иммуногистохимии (Noushmehr et al., 2005; Wallin et al., 2010). Обработка клеток *MIN6* специфическим ингибитором *CD36* приводила к подавлению в них транслокации жирных кислот. В настоящее время считается, что *CD36* играет важную роль в модуляции физиологического состояния островков, регулируя утилизацию жирных кислот бета-клетками и секрецию инсулина (Noushmehr et al., 2005).

Экспрессия рецептора *GPR40* выявлена при помощи ОТ-ПЦР анализа, РНК-гибридизации *in situ*, иммуногистохимии и иммуноблот-анализа в клеточных линиях инсулиномы мышей *MIN6* и β ТС-3, инсулиномы крыс *RINm5F* и инсулиномы хомяка *HIT-T15*, а также в островках крыс, мышей и человека (Itoh et al., 2003; Kotarsky et al., 2003; Salehi et al., 2005; Steneberg et al., 2005; Tomita et al., 2006; Schnell et al., 2007; Del Guerra et al., 2010). Экспрессия *GPR120* также была обнаружена в островках крыс и мышей и в клеточных линиях *INS-1E* и *MIN6*, используя ОТ-ПЦР анализ, иммуногистохимию и иммуноблоттинг (Kebede et al., 2009; Moran et al., 2014; Zhang et al., 2017). В островках поджелудочной железы человека транскрипты *GPR120* были обнаружены при экспрессионном анализе на основе кДНК-микрочипов (Taneera et al., 2012). Свободные жирные кислоты вызывают повышение внутриклеточного содержания ионов Ca^{2+} и усиливают глюкозозависимую секрецию инсулина в бета-клетках грызунов, а нокаут *GPR40* и *GPR120* или подавление их экспрессии блокируют эти эффекты. Таким образом, влияние жирных кислот на уровень внутриклеточного кальция и на секрецию инсулина опосредовано через рецепторы *GPR40* и *GPR120* (Itoh et al., 2003; Fujiwara et al., 2005; Salehi et al., 2005; Shapiro et al., 2005; Steneberg et al., 2005; Schnell et al., 2007; Zhang et al., 2017). Для подтверждения роли *GPR40* и *GPR120* в регуляции секреции инсулина применялись низкомолекулярные агонисты и антагонисты рецепторов жирных кислот, что позволило исключить эффекты, связанные с метаболизмом жирных кислот. Усиление глюкозозависимой секреции в клетках *MIN6*, индуцированное агонистом *GPR40*-рецептора *GW9508*, полностью ингибировалось селективным антагонистом *GW1100* (Briscoe et al., 2006). Селективный агонист *GPR120*-рецептора *GSK137647* вызывал усиление глюкозозависимой

секреции инсулина в островках поджелудочной железы крыс и мышей и в культуральных клетках INS-1E. Этот инсулинотропный эффект блокировался селективным антагонистом GPR120-рецептора AN7614 (Zhang et al., 2017). Приведенные данные ингибиторного анализа указывают на то, что рецепторы GPR40 и GPR120 вовлечены в регуляцию глюкозозависимой секреции инсулина в бета-клетках.

ЭКСПРЕССИЯ КОМПОНЕНТОВ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ТРАНСДУКЦИИ В БЕТА-КЛЕТКАХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Обонятельная система млекопитающих осуществляет детекцию запахов и феромонов с исключительной чувствительностью и специфичностью, и определяет широкий спектр физиологических функций, включая размножение, социальное поведение, поиск и выбор пищи, а также регуляцию нейроэндокринных функций. Трансдукция обонятельного сигнала происходит в обонятельных цилиях сенсорных нейронов обонятельного эпителия. В процессе обонятельной трансдукции происходит преобразование внешнего химического стимула во внутриклеточный электрохимический сигнал. Распознавание запахов обеспечивается обонятельными рецепторами, принадлежащими к семейству GPCR-рецепторов. Гены обонятельных рецепторов, составляющие самое большое мультигенное семейство в геномах млекопитающих, впервые были идентифицированы в 1991 г. в обонятельном эпителии крысы при помощи молекулярного клонирования (Vuck, Axel, 1991). Связывание молекул пахучих веществ с обонятельным рецептором запускает классический цАМФ-опосредованный сигнальный путь. Активированный рецептор передает сигнал на специфический обонятельный G-белок G_{olf} , что приводит к индукции аденилатциклазы III (ACIII), которая катализирует превращение АТФ в цАМФ (Wong et al., 2000). Повышение концентрации вторичного посредника цАМФ инициирует открытие Ca^{2+} -проницаемых CNG-каналов и деполяризацию мембраны обонятельного нейрона. Происходящее при этом повышение внутриклеточного содержания ионов кальция вызывает активацию кальций-управляемых хлорных каналов и выход ионов хлора из клетки, что обуславливает дополнительную деполяризацию клеточной мембраны и возникновение потенциала действия.

В настоящее время накоплены данные, свидетельствующие о том, что ключевые элементы передачи обонятельных сигналов имеют ectopic экспрессию в инсулинпродуцирующих

клетках. В 1998 г. Блаш и соавт. клонировали мРНК неизвестного на момент исследования обонятельного рецептора OL2 в клетках инсулиномы мышей MIN6 (Blache et al., 1998). Мунаката и соавт. идентифицировали около 47 обонятельных рецепторов в островках поджелудочной железы мышей и в клетках MIN6 при экспрессионном анализе при помощи кДНК-микрочипов. Экспрессию трех из них (Olf15, Olf821 и Olf1222) они подтвердили методом ОТ-ПЦР в клетках MIN6. Иммуногистохимический анализ выявил локализацию OLF15 и OLF821 в бета-клетках поджелудочной железы мышей (Munakata et al., 2018). Лим и соавт. при экспрессионном анализе на основе кДНК-микрочипов идентифицировали 29 обонятельных рецепторов в клетках инсулиномы мышей MIN6. Кроме того, они подтвердили экспрессию Olf15 в бета-клетках поджелудочной железы мышей и в клетках MIN6 методами ОТ-ПЦР, иммуноблот-анализа и иммуногистохимии (Leem et al., 2018). Агонист рецептора OLF15 – октановая кислота вызывала усиление глюкозозависимой секреции инсулина в островках поджелудочной железы мышей и в клетках MIN6. Подавление экспрессии Olf15 посредством мРНК отменяло эффекты октановой кислоты на глюкозозависимую секрецию инсулина в клетках MIN6, подтверждая функциональный характер экспрессии OLF15 (Leem et al., 2018; Munakata et al., 2018). В островках поджелудочной железы мышей с модельным сахарным диабетом снижена экспрессия OLF15 и глюкозозависимая секреция инсулина, индуцируемая октановой кислотой, по сравнению с контрольными животными, что может свидетельствовать о возможной роли обонятельных рецепторов в патогенезе сахарного диабета (Leem et al., 2018).

Экспрессия специфической обонятельной субъединицы G-белка G_{olf} обнаружена при помощи ОТ-ПЦР анализа, РНК-гибридизации *in situ*, иммуноблот-анализа и иммуногистохимии в бета-клетках островков поджелудочной железы грызунов и человека, а также в клеточных линиях β ТС-1, β ТС-3, HIT-T15 и RINm5F (Zigman et al., 1993; Marie et al., 1996; Emami et al., 1998; Frayon et al., 1999; Astesano et al., 1999; Skoglund et al., 1999; Phan et al., 2000; Portela-Gomes, Abdel-Halim, 2002). G_{olf} обнаружен также в инсулиновых секреторных гранулах бета-клеток поджелудочной железы крыс с применением иммуноцитохимии, что может свидетельствовать о его вовлечении в процесс экзоцитоза инсулина (Astesano et al., 1999). Сверхэкспрессия G_{olf} в клетках инсулиномы β ТС-3 вызывала снижение глюкозозависимой секреции инсулина, что также позволяет сделать вывод об участии G_{olf} в регуляции секреции инсулина (Régnauld et al., 2002). Фан и соавт. (Phan et al.,

2000) показали, что в бета-клетках поджелудочной железы крыс и в клетках инсулиномы хомьяков Н1Т-Т15 $G_{\alpha_{olf}}$, локализованный в субклеточных фракциях М1 (содержащих клеточные мембраны, цитоплазматические органеллы, инсулиновые гранулы) и М2 (содержащих митохондрии), подвергается АДФ-рибозилированию под воздействием холерного токсина. На основании этих данных авторы сделали предположение о функциональном характере экспрессии $G_{\alpha_{olf}}$ в бета-клетках и его потенциальной способности активировать аденилатциклазу в инсулин-содержащих клетках. При длительном культивировании в течение двух недель клеток Н1Т-Т15 в условиях высокой концентрации глюкозы (25 мМ) в субклеточной фракции М1 наблюдались повышение экспрессии $G_{\alpha_{olf}}$ и снижение уровня АДФ-рибозилирования $G_{\alpha_{olf}}$, что может свидетельствовать о снижении его функциональной активности. Такие же изменения наблюдались в островках поджелудочной железы сытых мышей по сравнению с островками поджелудочной железы голодных мышей. Авторы пришли к заключению, что гипергликемия модулирует экспрессию и функциональную активность $G_{\alpha_{olf}}$ и может оказывать негативное влияние на цАМФ-зависимый процесс секреции инсулина при развитии сахарного диабета (Phan et al., 2000). Это предположение согласуется с тем, что в бета-клетках поджелудочной железы крыс с модельным сахарным диабетом повышена экспрессия $G_{\alpha_{olf}}$ по сравнению с контрольными животными (Frayon et al., 1999; Portela-Gomes, Abdel-Halim, 2002). Кроме того, имеются данные, показывающие, что $G_{\alpha_{olf}}$ может играть роль в регуляции морфогенеза поджелудочной железы и процессов роста, дифференцировки и апоптоза бета-клеток (Ferrand et al., 1996; Régnault et al., 2002).

Экспрессия ключевого компонента обонятельной трансдукции АСIII обнаружена в бета-клетках поджелудочной железы крыс с применением методов иммуногистохимии и РНК-гибридизации *in situ* (Abdel-Halim et al., 1998; Guenifi et al., 2000; Portela-Gomes, Abdel-Halim, 2002). Выявленная коэкспрессия $G_{\alpha_{olf}}$ и АСIII в бета-клетках островков крыс позволяет предположить, что они могут являться компонентами какого-то неизвестного сигнального каскада (Emami et al., 1998; Portela-Gomes, Abdel-Halim, 2002). Повышение экспрессии АСIII в бета-клетках поджелудочной железы крыс с модельным сахарным диабетом может быть связано с мутациями, обнаруженными в промоторной области гена АСIII (Abdel-Halim et al., 1998). На основании данных о повышенном уровне экспрессии АСIII в островках поджелудочной железы крыс с модельным сахарным диабетом было выдвинуто предположе-

ние о возможном участии этого сигнального белка в формировании диабетического фенотипа (Abdel-Halim et al., 1998; Guenifi et al., 2000; Portela-Gomes, Abdel-Halim, 2002; Seed Ahmed et al., 2012).

ЭКСПРЕССИЯ КОМПОНЕНТОВ КАСКАДОВ ФОТОТРАНСДУКЦИИ В БЕТА-КЛЕТКАХ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Процесс фототрансдукции происходит в фоторецепторных клетках сетчатки глаза – палочках и колбочках. Палочки детектируют зрительные стимулы при низкой интенсивности света и обеспечивают ночное зрение, а колбочки осуществляют детекцию зрительных стимулов высокой интенсивности, обеспечивают дневное зрение и позволяют различать цвета. В отличие от большинства сенсорных рецепторных клеток палочки и колбочки гиперполяризуются при фотостимуляции и деполяризованы в темноте. В этих фоточувствительных клетках молекулярным сенсором фотонов является родопсин, который принадлежит к суперсемейству семидоменных рецепторов, сопряженных с G-белками. Родопсин, открытый Боллем (Boll, 1977), состоит из белковой части опсина и хромофора ретинальдегида. При поглощении кванта света хромофорная группа 11-цис-ретиналь изомеризуется в трансформу, вызывая конформационное изменение белковой части рецептора, которое инициирует сигнальные процессы, называемые фототрансдукцией (Kwok-Keung Fung, Stryer, 1980; Godchaux, Zimmerman, 1979). Гетеротримерные G-белки в палочках и колбочках имеют различный состав. В палочках локализованы субъединицы α_1 (трансдуцин палочек), β_1 и γ_1 , а в колбочках α_2 (трансдуцин колбочек), β_3 и γ_8 . Эффекторным белком в каскаде фототрансдукции является фосфодиэстераза 6 (PDE6), которая неактивна в темноте за счет взаимодействия каталитических и ингибиторных субъединиц. Активированный трансдуцин стимулирует PDE6, которая конвертирует циклический ГМФ (цГМФ) в ГМФ. Снижение концентрации внутриклеточного цГМФ приводит к закрытию цГМФ-активируемых ионных каналов (CNG-каналы) и гиперполяризации фоторецепторной клетки (Fesenko et al., 1986; Yau, Hardie, 2009). В палочках и колбочках процесс фототрансдукции происходит идентично, вовлекая при этом разные изоформы ключевых белков зрительного сигнального каскада, включая трансдуцин, фосфодиэстеразу и CNG-каналы (Yau, Hardie, 2009). Кроме палочек и колбочек, в сетчатке глаза есть третий тип фоточувствительных клеток – ганглионарные клетки, связанные с циркадными ритмами. Эти клетки экспрессируют фоторецепторный белок меланопсин, сопряженный не с

трансдукцином, а с G-белком Gq. Фотоактивация меланопсина запускает неканонический каскад фототрансдукции, компонентами которого являются фосфолипаза PLC β 4 и каналы TRPC6 и TRPC7 (Xue et al., 2011). Существуют данные о локализации опсинов в органах, не относящихся к зрительной системе, например, в головном мозге, коже, кровеносных сосудах, иммунных клетках, печени, легких, семенниках и аорте, но функция их в этих органах пока не известна (Leung, Montell, 2017). Информации об экспрессии опсинов в бета-клетках на сегодняшний день нет, тем не менее, некоторые компоненты каскада фототрансдукции в них обнаружены. Так, при помощи флуоресцентной иммуногистохимии в бета-клетках поджелудочной железы крысы выявлена экспрессия трансдукцина колбочек (Skoglund et al., 1999). В островках поджелудочной железы мышей экспрессия трансдукцина колбочек была обнаружена методами ОТ-ПЦР, Нозерн-блота и РНК-гибридизации *in situ* (Zigman et al., 1994). Наряду с поджелудочной железой трансдукцин колбочек также был обнаружен в надпочечниках и гипофизе, и это позволило авторам предположить, что трансдукцин может выступать модулятором секреции гормонов (Zigman et al., 1994). По поводу экспрессии трансдукцина палочек в бета-клетках информации на сегодняшний день нет. Из других элементов фототрансдукции Кассар и соавт. (Cassar et al., 2004) при помощи ОТ-ПЦР выявили экспрессию CNGA3, которая является субъединицей CNG-каналов колбочек млекопитающих, в 23 тканях человека, включая поджелудочную железу. Идентификация трех альтернативных сплайс-вариантов мРНК CNGA3, для которых характерна тканеспецифическая экспрессия, позволили предположить, что функциональная роль сплайс-вариантов CNGA3 различна в разных тканях (Cassar et al., 2004). В клеточной линии инсулиномы крыс INS-1 при помощи ОТ-ПЦР выявлена экспрессия субъединиц CNGA1, CNGA2, CNGB1 и CNGB3, что указывает на возможность существования в бета-клетках функциональных гетеромерных CNG-каналов, которые предположительно вовлечены в кальциевую сигнализацию, регулирующую секрецию инсулина (Stumpf et al., 2008). В бета-клетках поджелудочной железы также присутствуют некоторые компоненты неканонического каскада фототрансдукции, сопряженного с меланопсином. Так, применение методов иммуногистохимии, иммуноблот-анализа и ОТ-ПЦР в реальном времени позволило обнаружить экспрессию PLC β 4 в островках поджелудочной железы мышей и крыс и в клеточной линии инсулиномы мышей MIN6 (Kim et al., 2001a; 2001b; Hwang et al., 2019). С применением ОТ-ПЦР экспрессия транскриптов TRPC7 выяв-

лена в островках поджелудочной железы человека (Qian et al., 2002), а экспрессия TRPC6 в островках поджелудочной железы крыс (Hayes et al., 2013).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В бета-клетках островков Лангерганса поджелудочной железы млекопитающих обнаружена экспрессия компонентов сигнальных каскадов, вовлеченных во вкусовую, обонятельную и фототрансдукцию. Относительно экспрессии некоторых компонентов данные в опубликованных статьях противоречивы. Возможно, это связано с тем, что уровень эктопической экспрессии исследуемых молекул невысок по сравнению с уровнем их специфической экспрессии в специализированных клетках вкусовой, обонятельной и зрительной систем. Кроме того, нужно отметить, что не все компоненты специфических сигнальных каскадов сенсорных клеток представлены в бета-клетках. В бета-клетках и культуральных клетках различных линий инсулином выявлена экспрессия генов вкусовых рецепторов семейства T1R, густуцина, фосфолипазы PLC, рецептора IP3R3, катионного канала TRPM5. Обнаружена экспрессия сигнальных элементов обонятельной сенсорной системы: генов обонятельных рецепторов, специфической обонятельной α -субъединицы G-белков G $_{\alpha olf}$ и обонятельной изоформы аденилатциклазы ACIII. Показана экспрессия в клетках островков поджелудочной железы компонентов канонического и неканонического сигнальных каскадов фототрансдукции: трансдукцина колбочек сетчатки глаза, катионных каналов, активируемых циклическими нуклеотидами, фосфолипазы PLC β 4, каналов TRPC6 и TRPC7. В ходе физиологических исследований подтверждена функциональная активность выявленных сигнальных белков в бета-клетках островков Лангерганса, а именно их участие в регуляции базовой и глюкозозависимой секреции инсулина. При исследовании животных с модельным сахарным диабетом отмечено, что их экспрессия и функция в бета-клетках поджелудочной железы изменяются при развитии заболевания. Результаты функциональных исследований компонентов сигнальных каскадов сенсорной трансдукции в бета-клетках указывают на их возможную роль в патогенезе сахарного диабета. В настоящее время некоторые из описанных в данном обзоре сигнальных молекул рассматриваются как перспективные фармакологические мишени для разработки новых подходов к терапии этого заболевания.

The expression and function of components of signaling cascades of taste, olfactory, and phototransduction in mammalian pancreas beta-cells

Yu. A. Kovalitskaya^a, N. P. Kovalenko^a, and M. F. Bystrova^{a, #}

^a Institute of Cell Biophysics, Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences
142290 Moscow Region, Pushchino, Institutskaya street, 3, Russia

[#]E-mail: marinabystrova@rambler.ru

The taste, olfactory, and visual systems are responsible for the detection and recognition of diverse physical and chemical stimuli of environment. Proteins involved in sensory transduction pathways are expressed in highly specific manner in taste cells, olfactory neurons, retinal cones and rods. However, the ectopic expression of the components of the transduction cascades mediating sensory reception were also found in beta-cells of mammalian pancreatic islets that synthesize, store, and release the hormone insulin. The functional role of the proteins involved in sensory transduction in the physiology of beta-cells remains unclear. A growing body of evidence indicates that in beta-cells, they may participate in the regulation of glucose stimulated insulin release and insulin production. Here, we provide a review of what is known about ectopic expression of the components of the transduction cascades of sensory reception in pancreas beta-cells as well as in the insulinoma cell lines, which retain glucose stimulated insulin secretion as isolated islets.

Key words: beta-cells, islets of Langerhans, insulin secretion, ectopic expression, signaling cascade, olfactory transduction, taste transduction, phototransduction

REFERENCES

- Abdel-Halim S.M., Guenifi A., He B., Yang B., Mustafa M., Höjberg B., Hillert J., Bakhiet M., Efendić S. Mutations in the promoter of adenylyl cyclase (AC)-III gene, overexpression of AC-III mRNA, and enhanced cAMP generation in islets from the spontaneously diabetic GK rat model of type 2 diabetes. *Diabetes*. 1998. V. 47 (3). P. 498–504.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.47.3.498>
- Adler E., Hoon M.A., Mueller K.L., Chandrashekar J., Ryba N.J., Zuker C.S. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell*. 2000. V. 100 (6). P. 693–702.
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80705-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80705-9)
- Astesano A., Regnaud K., Ferrand N., Gingras D., Bendayan M., Rosselin G., Emami S. Cellular and subcellular expression of Golf/Gs and Gq/G11 alpha-subunits in rat pancreatic endocrine cells. *Journal of histochemistry and cytochemistry*. 1999. V. 47 (3). P. 289–302.
<https://doi.org/10.1177/002215549904700303>
- Blache P., Gros L., Salazar G., Bataille D. Cloning and tissue distribution of a new rat olfactory receptor-like (OL2). *Biochemical and biophysical research communications*. 1998. V. 242 (3). P. 669–672.
<https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.8041>
- Blondel O., Moody M.M., Depaoli A.M., Sharp A.H., Ross C.A., Swift H., Bell G.I. Localization of inositol trisphosphate receptor subtype 3 to insulin and somatostatin secretory granules and regulation of expression in islets and insulinoma cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994. V. 91 (16). P. 7777–7781.
<https://doi.org/10.1073/pnas.91.16.7777>
- Blondel O., Takeda J., Janssen H., Seino S., Bell G.I. Sequence and functional characterization of a third inositol trisphosphate receptor subtype, IP3R-3, expressed in pancreatic islets, kidney, gastrointestinal tract, and other tissues. *Journal of Biological Chemistry*. 1993. V. 268 (15). P. 11356–11363.
- Boll F. On the anatomy and physiology of the retina. *Vision Research*. 1977. V. 17 (11–12). P. 1249–1265.
[https://doi.org/10.1016/0042-6989\(77\)90112-2](https://doi.org/10.1016/0042-6989(77)90112-2)
- Briscoe C.P., Peat A.J., McKeown S.C., Corbett D.F., Goetz A.S., Littleton T.R., McCoy D.C., Kenakin T.P., Andrews J.L., Ammala C., Fornwald J.A., Ignar D.M., Jenkinson S. Pharmacological regulation of insulin secretion in MIN6 cells through the fatty acid receptor GPR40: identification of agonist and antagonist small molecules. *British Journal of Pharmacology*. 2006. V. 148 (5). P. 619–628.
<https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706770>
- Brixel L.R., Monteilh-Zoller M.K., Ingenbrandt C.S., Fleig A., Penner R., Enklaar T., Zabel B.U., Prawitt D. TRPM5 regulates glucose-stimulated insulin secretion. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. 2010. V. 460 (1). P. 69–76.
<https://doi.org/10.1007/s00424-010-0835-z>
- Bruce J.I., Yang X., Ferguson C.J., Elliott A.C., Steward M.C., Case R.M., Riccardi D. Molecular and functional identification of a Ca²⁺ (polyvalent cation)-sensing receptor in rat pancreas. *Journal of Biological Chemistry*. 1999. V. 274 (29). P. 20561–20568.
<https://doi.org/10.1074/jbc.274.29.20561>
- Buck L., Axel R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell*. 1991. V. 65 (1). P. 175–187.
[https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90418-x](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90418-x)
- Caicedo A., Pereira E., Margolskee R.F., Roper S.D. Role of the G-protein subunit alpha-gustducin in taste cell responses to bitter stimuli. *The Journal of Neuroscience*. 2003. V. 23 (30). P. 9947–9952.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-30-09947.2003>

- Cassar S.C., Chen J., Zhang D., Gopalakrishnan M. Tissue specific expression of alternative splice forms of human cyclic nucleotide gated channel subunit CNGA3. *Molecular Vision*. 2004. V. 10. P. 808–813.
- Colsoul B., Jacobs G., Philippaert K., Owsianik G., Segal A., Nilius B., Voets T., Schuit F., Vennekens R. Insulin downregulates the expression of the Ca²⁺-activated nonselective cation channel TRPM5 in pancreatic islets from leptin-deficient mouse models. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. 2014. V. 466 (3). P. 611–621.
https://doi.org/10.1007/s00424-013-1389-7
- Colsoul B., Schraenen A., Lemaire K., Quintens R., Van Lommel L., Segal A., Owsianik G., Talavera K., Voets T., Margolskee R.F., Kokrashvili Z., Gilon P., Nilius B., Schuit F.C., Vennekens R. Loss of high-frequency glucose-induced Ca²⁺ oscillations in pancreatic islets correlates with impaired glucose tolerance in *Trpm5*^{-/-} mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010. V. 107 (11). P. 5208–5213.
https://doi.org/10.1073/pnas.0913107107
- Da Silva Xavier G. The Cells of the Islets of Langerhans. *Journal of Clinical Medicine*. 2018. V. 7 (3). P. 54–59.
https://doi.org/10.3390/jcm7030054
- Del Guerra S., Bugliani M., D'Aleo V., Del Prato S., Boggi U., Mosca F., Filippini F., Lupi R. G-protein-coupled receptor 40 (GPR40) expression and its regulation in human pancreatic islets: the role of type 2 diabetes and fatty acids. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2010. V. 20 (1). P. 22–25.
https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.02.008
- Dolenšek J., Rupnik M. S., Stožer A. Structural similarities and differences between the human and the mouse pancreas. *Islets*. 2015. V. № 1.7. P. e1024405 (1–16).
https://doi.org/10.1080/19382014.2015.1024405
- Elyat A.A., el-Naggar M.M., Tahir M. An immunocytochemical and morphometric study of the rat pancreatic islets. *Journal of Anatomy*. 1995. V. 186. P. 629–637.
- Emami S., Regnaud K., Ferrand N., Astesano A., Pessah M., Phan H., Boissard C., Garel J.M., Rosselin G. Stimulatory transducing systems in pancreatic islet cells. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1998. V. 865. P. 118–131.
https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb11170.x
- Ferrand N., Astesano A., Rosselin G. Evidence of G-protein alpha s and alpha olf subunits in developing human pancreas. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1996. V. 805 (1). P. 563–569.
https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb17520.x
- Fesenko E.E., Kolesnikov S.S., Lyubarsky A.L. Direct action of cGMP on the conductance of retinal rod plasma membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*. 1986. V. 856 (3). P. 661–671.
https://doi.org/10.1016/0005-2736(86)90162-8
- Fiume R., Ramazzotti G., Faenza I., Piazzini M., Bavelloni A., Billi A.M., Cocco L. Nuclear PLCs affect insulin secretion by targeting PPARγ in pancreatic β cells. *FASEB Journal*. 2012. V. 26 (1). P. 203–210.
https://doi.org/10.1096/fj.11-186510
- Frayon S., Pessah M., Giroix M.H., Mercan D., Boissard C., Malaisse W.J., Portha B., Garel J.M. Galphao1 identification by RT-PCR in purified normal pancreatic B cells and in islets from rat models of non-insulin-dependent diabetes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1999. V. 254 (1). P. 269–272.
https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9791
- Fujiwara K., Maekawa F., Yada T. Oleic acid interacts with GPR40 to induce Ca²⁺ signaling in rat islet beta-cells: mediation by PLC and L-type Ca²⁺ channel and link to insulin release. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2005. V. 289 (4). P. E670–E677.
https://doi.org/10.1152/ajpendo.00035.2005
- Gasa R., Trinh K.Y., Yu K., Wilkie T.M., Newgard C.B. Overexpression of G11alpha and isoforms of phospholipase C in islet beta-cells reveals a lack of correlation between inositol phosphate accumulation and insulin secretion. *Diabetes*. 1999. V. 48. № 5. P. 1035–1044.
https://doi.org/10.2337/diabetes.48.5.1035
- Godchaux W. 3rd, Zimmerman W.F. Membrane-dependent guanine nucleotide binding and GTPase activities of soluble protein from bovine rod cell outer segments. *The Journal of Biological Chemistry*. 1979. V. 254 (16). P. 7874–7884.
- Guenifi A., Portela-Gomes G.M., Grimelius L., Efenđić S., Abdel-Halim S.M. Adenylyl cyclase isoform expression in non-diabetic and diabetic Goto-Kakizaki (GK) rat pancreas. Evidence for distinct overexpression of type-8 adenylyl cyclase in diabetic GK rat islets. *Histochemistry and Cell Biology*. 2000. V. 113 (2). P. 81–89.
https://doi.org/10.1007/s004180050010
- Hayes H.L., Moss L.G., Schisler J.C., Haldeman J.M., Zhang Z., Rosenberg P.B., Newgard C.B., Hohmeier H.E. Pdx-1 activates islet α- and β-cell proliferation via a mechanism regulated by transient receptor potential cation channels 3 and 6 and extracellular signal-regulated kinases 1 and 2. *Molecular and Cellular Biology*. 2013. V. 33 (20). P. 4017–4029.
https://doi.org/10.1128/MCB.00469-13
- Hwang H.J., Yang Y.R., Kim H.Y., Choi Y., Park K.S., Lee H., Ma J.S., Yamamoto M., Kim J., Chae Y.C., Choi J.H., Cocco L., Berggren P.O., Jang H.J., Suh P.G. Phospholipase C-β1 potentiates glucose-stimulated insulin secretion. *FASEB Journal*. 2019. V. 33 (10). P. 10668–10679.
https://doi.org/10.1096/fj.201802732RR
- Ichimura A., Hasegawa S., Kasubuchi M., Kimura I. Free fatty acid receptors as therapeutic targets for the treatment of diabetes. *Frontiers in Pharmacology*. 2014. V. 5. P. 236.
https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00236
- Ishihara H., Asano T., Tsukuda K., Katagiri H., Inukai K., Anai M., Kikuchi M., Yazaki Y., Miyazaki J.I., Oka Y. Pancreatic beta cell line MIN6 exhibits characteristics of glucose metabolism and glucose-stimulated insulin secretion similar to those of normal islets. *Diabetologia*.

1993. V. 36 (11). P. 1139–1145.
<https://doi.org/10.1007/BF00401058>
- Itoh Y., Kawamata Yu., Harada M., Kobayashi M., Fujii R., Fukusumi Sh., Ogi K., Hosoya M., Tanaka Y., Uejima H., Tanaka H., Maruyama M., Satoh R., Okubo Sh., Kizawa H., Komatsu H., Matsumura F., Noguchi Yu., Shinohara T., Hinuma S., Fujisawa Yu., Fujino M. Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic beta cells through GPR40. *Nature*. 2003. V. 422 (6928). P. 173–176.
<https://doi.org/10.1038/nature01478>
- Kebede M.A., Alquier T., Latour M.G., Poitout V. Lipid receptors and islet function: therapeutic implications? *Diabetes Obesity and Metabolism*. 2009. V. 11 (4). P. 10–20.
<https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2009.01114.x>
- Kim M.J., Lee K.H., Min D.S., Yoon S.H., Hahn S.J., Kim M.S., Jo Y.H. Distributional patterns of phospholipase C isozymes in rat pancreas. *Pancreas*. 2001b. V. 22 (1). P. 47–52.
<https://doi.org/10.1097/00006676-200101000-00008>
- Kim M.R., Kusakabe Y., Miura H., Shindo Y., Ninomiya Y., Hino A. Regional expression patterns of taste receptors and gustducin in the mouse tongue. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003. V. 312 (2). P. 500–506.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2003.10.137>
- Kim S.S., Jun K., Jeong M., Ryu S.H., Suh P.G., Shin H.S. Immunohistochemical localization of eight phospholipase C isozymes in pancreatic islets of the mouse. *Experimental and Molecular Medicine*. 2001a. V. 33 (3). P. 164–168.
<https://doi.org/10.1038/emm.2001.28>
- Kojima I., Medina J., Nakagawa Y. Role of the glucose-sensing receptor in insulin secretion. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2017. V. 19 (1). P. 54–62.
<https://doi.org/10.1111/dom.13013>
- Komatsu M., Takei M., Ishii H., Sato Y. Glucose-stimulated insulin secretion: A newer perspective. *Journal of Diabetes Investigations*. 2013. V. 4. № 6. P. 511–516.
<https://doi.org/10.1111/jdi.12094>
- Kotarsky K., Nilsson N.E., Flodgren E., Owman C., Olde B. A human cell surface receptor activated by free fatty acids and thiazolidinedione drugs. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2003. V. 301 (2). P. 406–410.
[https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(02\)03064-4](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(02)03064-4)
- Kwok-Keung Fung B., Stryer L.J. Photolyzed rhodopsin catalyzes the exchange of GTP for bound GDP in retinal rod outer segments. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1980. V. 77 (5). P. 2500–2504.
<https://doi.org/10.1073/pnas.77.5.2500>
- Kyriazis G.A., Smith K.R., Tyrberg B., Hussain T., Pratlley R.E. Sweet taste receptors regulate basal insulin secretion and contribute to compensatory insulin hypersecretion during the development of diabetes in male mice. *Endocrinology*. 2014. V. 155 (6). P. 2112–2121.
<https://doi.org/10.1210/en.2013-2015>
- Kyriazis G.A., Soundarapandian M.M., Tyrberg B. Sweet taste receptor signaling in beta cells mediates fructose-induced potentiation of glucose-stimulated insulin secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012. V. 109 (8). P. E524–E532.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1115183109>
- Lee B., Bradford P.G., Laychock S.G. Characterization of inositol 1,4,5-trisphosphate receptor isoform mRNA expression and regulation in rat pancreatic islets, RINm5F cells and betaHC9 cells. *Journal of molecular endocrinology*. 1998. V. 21 (1). P. 31–39.
<https://doi.org/10.1677/jme.0.0210031>
- Lee B., Laychock S.G. Inositol 1,4,5-trisphosphate receptor isoform expression in mouse pancreatic islets: effects of carbachol. *Biochemical Pharmacology*. 2001. V. 61 (3). P. 327–336.
[https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(00\)00559-1](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(00)00559-1)
- Leem J., Shim H.M., Cho H., Park J.H. Octanoic acid potentiates glucose-stimulated insulin secretion and expression of glucokinase through the olfactory receptor in pancreatic β -cells. *BBRC*. 2018. V. 503 (1). P. 278–284.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.06.015>
- Leung N.Y., Montell C. Unconventional Roles of Opsins. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 2017. V. 33. P. 241–264.
<https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100616-060432>
- Li F., Zhang Z.M. Comparative identification of Ca²⁺ channel expression in INS-1 and rat pancreatic beta cells. *World Journal of Gastroenterology*. 2009. V. 15 (24). P. 3046–3050.
<https://doi.org/10.3748/wjg.15.3046>
- Liman E. TRPM5 and taste transduction. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2007. V. 179. P. 287–298.
https://doi.org/10.1007/978-3-540-34891-7_17
- Marie J.C., Rosselin G., Skoglund G. Pancreatic beta-cell receptors and G proteins coupled to adenylyl cyclase. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1996. V. 805. P. 122–131.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1996.tb17478.x>
- Medina A., Nakagawa Y., Ma J., Li L., Hamano K., Akimoto T., Ninomiya Y., Kojima I. Expression of the glucose-sensing receptor T1R3 in pancreatic islet: changes in the expression levels in various nutritional and metabolic states. *Endocrine Journal*. 2014. V. 61 (8). P. 797–805.
<https://doi.org/10.1507/endocrj.ej14-0221>
- Medina J., Nakagawa Y., Nagasawa M., Fernandez A., Sakaguchi K., Kitaguchi T., Kojima I. Positive allosteric modulation of the calcium-sensing receptor by physiological concentrations of glucose *The Journal of Biological Chemistry*. 2016. V. 291 (44). P. 23126–23135.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M116.729863>
- Miyazaki J., Araki K., Yamato E., Ikegami H., Asano T., Shibasaki Y., Oka Y., Yamamura K. Establishment of a

- pancreatic beta cell line that retains glucose-inducible insulin secretion: special reference to expression of glucose transporter isoforms. *Endocrinology*. 1990. V. 127 (1). P. 126–132.
<https://doi.org/10.1210/endo-127-1-126>
- Moran B.M., Abdel-Wahab Y.H.A., Flatt P.R., McKillop A.M. Evaluation of the insulin-releasing and glucose-lowering effects of GPR120 activation in pancreatic β -cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2014. V. 16 (11). P. 1128–1139.
<https://doi.org/10.1111/dom.12330>
- Munakata Y., Yamada T., Imai J., Takahashi K., Tsukita S., Shirai Y., Kodama S., Asai Y., Sugisawa T., Chiba Y., Kaneko K., Uno K., Sawada S., Hatakeyama H., Kanzaki M., Miyazaki J.I., Oka Y., Katagiri H. Olfactory receptors are expressed in pancreatic β -cells and promote glucose-stimulated insulin secretion. *Scientific Reports*. 2018. V. 8 (1). P. 1499–1505.
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-19765-5>
- Murovets V., Sozontov E., Zachepilo T. The Effect of the Taste Receptor Protein T1R3 on the Development of Islet Tissue of the Murine Pancreas. *Dokl Biol Sci*. 2019. V. 484 (1). P. 1–4.
<https://doi.org/10.1134/S0012496619010010>
- Nakagawa Y., Nagasawa M., Mogami H., Lohse M., Ninomiya Y., Kojima I. Multimodal function of the sweet taste receptor expressed in pancreatic β -cells: generation of diverse patterns of intracellular signals by sweet agonists. *Endocrine Journal*. 2013. V. 60 (10). P. 1191–1206.
<https://doi.org/10.1507/endocrj.ej13-0282>
- Nakagawa Y., Nagasawa M., Yamada S., Hara A., Mogami H., Nikolaev V.O., Lohse M.J., Shigemura N., Ninomiya Y., Kojima I. Sweet taste receptor expressed in pancreatic beta-cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PLoS One*. 2009. V. 4 (4): e5106.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0005106>
- Nakagawa Y., Ohtsu Y., Nagasawa M., Shibata H., Kojima I. Glucose promotes its own metabolism by acting on the cell-surface glucose-sensing receptor T1R3. *Endocrine Journal*. 2014. V. 61 (2). P. 119–131.
<https://doi.org/10.1507/endocrj.ej13-0431>
- Nordenskjöld F., Andersson B., Islam M.S. Expression of the Inositol 1,4,5-Trisphosphate Receptor and the Ryanodine Receptor Ca²⁺-Release Channels in the Beta-Cells and Alpha-Cells of the Human Islets of Langerhans. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2020. V. 1131. P. 271–279.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-12457-1_11
- Noushmehr H., D'Amico E., Farilla L., Hui H., Wawrowsky K.A., Mlynarski W., Doria A., Abumrad N.A., Perfetti R. Fatty acid translocase (FAT/CD36) is localized on insulin-containing granules in human pancreatic beta-cells and mediates fatty acid effects on insulin secretion. *Diabetes*. 2005. V. 54 (2). P. 472–481.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.54.2.472>
- Oya M., Suzuki H., Watanabe Y., Sato M., Tsuboi T. Amino acid taste receptor regulates insulin secretion in pancreatic β -cell line MIN6 cells. *Genes to Cells*. 2011. V. 16 (5). P. 608–616.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2011.01509.x>
- Ozdener M.H., Subramaniam S., Sundaresan S., Sery O., Hashimoto T., Asakawa Y., Besnard P., Abumrad N.A., Khan N.A. CD36- and GPR120-mediated Ca²⁺-signaling in human taste bud cells mediates differential responses to fatty acids and is altered in obese mice. *Gastroenterology*. 2014. V. 146 (4). P. 995–1005.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2014.01.006>
- Phan H.H., Boissard C., Pessah M., Regnaud K., Emami S., Gespach C., Rosselin G. Decreased ADP-ribosylation of the Galpha(olf) and Galpha(s) subunits by high glucose in pancreatic B-cells. *BBRC*. 2000. V. 271 (1). P. 86–90.
<https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2580>
- Philippaert K., Pironet A., Mesuere M., Sones W., Vermeiren L., Kerselaers S., Pinto S., Segal A., Antoine N., Gysemans C., Laureys J., Lemaire K., Gilon P., Cuypers E., Tytgat J., Mathieu C., Schuit F., Rorsman P., Talavera K., Voets T., Vennekens R. Steviol glycosides enhance pancreatic beta-cell function and taste sensation by potentiation of TRPM5 channel activity. *Nature Communications*. 2017. V. 8. P. 14733–14738.
<https://doi.org/10.1038/ncomms14733>
- Portela-Gomes G.M., Abdel-Halim S.M. Overexpression of Gs proteins and adenylyl cyclase in normal and diabetic islets. *Pancreas*. 2002. V. 25 (2). P. 176–181.
<https://doi.org/10.1097/00006676-200208000-00011>
- Prawitt D., Monteilh-Zoller M.K., Brixel L., Spangenberg C., Zabel B., Fleig A., Penner R. TRPM5 is a transient Ca²⁺-activated cation channel responding to rapid changes in [Ca²⁺]_i. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003. V. 100 (25). P. 15166–15171.
<https://doi.org/10.1073/pnas.2334624100>
- Qian F., Huang P., Ma L., Kuznetsov A., Tamarina N., Philipson L.H. TRP genes: candidates for nonselective cation channels and store-operated channels in insulin-secreting cells. *Diabetes*. 2002. V. 51 (1). P. 183–189.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.51.2007.s183>
- Régnault K.L., Leteurtre E., Gutkind S.J., Gespach C.P., Emami S. Activation of adenylyl cyclases, regulation of insulin status, and cell survival by G(alpha)olf in pancreatic beta-cells. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2002. V. 282 (3). P. R870–R880.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00374.2001>
- Rodríguez-Trelles F., Tarrío R., Ayala F.J. Is ectopic expression caused by deregulatory mutations or due to gene-regulation leaks with evolutionary potential? *Bioessays*. 2005. V. 27 (6). P. 592–601.
<https://doi.org/10.1002/bies.20241>
- Romanov R.A., Rogachevskaja O.A., Khokhlov A.A., Kolesnikov S.S. Voltage dependence of ATP secretion in mammalian taste cells. *Journal of General Physiology*. 2008. V. 132(6). P. 731–744.
<https://doi.org/10.1085/jgp.200810108>

- Roper S.D., Chaudhari N. Taste buds: cells, signals and synapses. *Nature Reviews Neuroscience*. 2017. V. 18. № 8. P. 485–497.
<https://doi.org/10.1038/nrn.2017.68>
- Rosker C., Meur G., Taylor E.J., Taylor C.W. Functional ryanodine receptors in the plasma membrane of RINm5F pancreatic beta-cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 2009. V. 284 (8). P. 5186–5194.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M805587200>
- Rössler P., Kroner C., Freitag J., Noè J., Breer H. Identification of a phospholipase C beta subtype in rat taste cells. *European Journal of Cell Biology*. 1998. V. 77 (3). P. 253–261.
[https://doi.org/10.1016/s00171-9335\(98\)80114-3](https://doi.org/10.1016/s00171-9335(98)80114-3)
- Salehi A., Flodgren E., Nilsson N. E., Jimenez-Feltstrom J., Miyazaki J., Owman C., Olde B. Free fatty acid receptor 1 (FFA1R/GPR40) and its involvement in fatty-acid-stimulated insulin secretion. *Cell and Tissue Research*. 2005. V. 322 (2). P. 207–215.
<https://doi.org/10.1007/s00441-005-0017-z>
- Schnell S., Schaefer M., Schöfl C. Free fatty acids increase cytosolic free calcium and stimulate insulin secretion from β -cells through activation of GPR40. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2007. V. 263 (1–2). P. 173–180.
<https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.09.013>
- Seed Ahmed M., Kovoov A., Nordman S., Abu Seman N., Gu T., Efendic S., Brismar K., Östenson C.G., Gu H.F. Increased expression of adenylyl cyclase 3 in pancreatic islets and central nervous system of diabetic Goto-Kakizaki rats: a possible regulatory role in glucose homeostasis. *Islets*. 2012. V. 4 (5). P. 343–348.
<https://doi.org/10.4161/isl.22283>
- Shapiro H., Shachar S., Sekler I., Hershfinkel M., Walker M.D. Role of GPR40 in fatty acid action on the β cell line INS-1E. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005. V. 335 (1). P. 97–104.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.07.042>
- Shigemura N., Nakao K., Yasuo T., Murata Y., Yasumatsu K., Nakashima A., Katsukawa H., Sako N., Ninomiya Y. Gurmardin sensitivity of sweet taste responses is associated with co-expression patterns of T1r2, T1r3, and gustducin. *BBRC*. 2008. V. 367 (2). P. 356–363.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.12.146>
- Skoglund G., Basmaciogullari A., Rouot B., Marie J.C., Rosselin G. Cell-specific localization of G protein alpha-subunits in the islets of Langerhans. *Journal of Endocrinology*. 1999. V. 162 (1). P. 31–37.
<https://doi.org/10.1677/joe.0.1620031>
- Steneberg P., Rubins N., Bartoov-Shifman R., Walker M.D., Edlund H. The FFA receptor GPR40 links hyperinsulinemia, hepatic steatosis, and impaired glucose homeostasis in mouse. *Cell Metabolism*. 2005. V. 1 (4). P. 245–258.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2005.03.007>
- Stumpf I., Mühlbauer E., Peschke E. Involvement of the cGMP pathway in mediating the insulin-inhibitory effect of melatonin in pancreatic beta-cells. *Journal of Pineal Research*. 2008. V. 45 (3). P. 318–327.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00593.x>
- Swatton J.E., Morris S.A., Cardy T.J., Taylor C.W. Type 3 inositol trisphosphate receptors in RINm5F cells are biphasically regulated by cytosolic Ca²⁺ and mediate quantal Ca²⁺ mobilization. *The Biochemical Journal*. 1999. V. 344 (1). P. 55–60.
- Taneera J., Lang S., Sharma A., Fadista J., Zhou Y., Ahlqvist E., Jonsson A., Lyssenko V., Vikman P., Hansson O., Parikh H., Korsgren O., Soni A., Krus U., Zhang E., Jing X.J., Esguerra J.L., Wollheim C.B., Salehi A., Rosengren A., Renström E., Groop L. A systems genetics approach identifies genes and pathways for type 2 diabetes in human islets. *Cell Metabolism*. 2012. V. 16 (1). P. 122–134.
<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.06.006>
- Tang B., Chow J.Y., Dong T.X., Yang S.M., Lu D.S., Carethers J.M., Dong H. Calcium sensing receptor suppresses human pancreatic tumorigenesis through a novel NCX1/Ca(2+)/ β -catenin signaling pathway. *Cancer Letters*. 2016. V. 377 (1). P. 44–54.
<https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.04.027>
- Tomita T., Masuzaki H., Iwakura H., Fujikura J., Noguchi M., Tanaka T., Ebihara K., Kawamura J., Komoto I., Kawaguchi Y., Fujimoto K., Doi R., Shimada Y., Hosoda K., Imamura M., Nakao K. Expression of the gene for a membrane-bound fatty acid receptor in the pancreas and islet cell tumours in humans: evidence for GPR40 expression in pancreatic beta cells and implications for insulin secretion. *Diabetologia*. 2006. V. 49 (5). P. 962–968.
<https://doi.org/10.1007/s00125-006-0193-8>
- Udagawa H., Hiramoto M., Kawaguchi M., Uebanso T., Ohara-Imaizumi M., Nammo T., Nishimura W., Yasuda K. Characterization of the taste receptor-related G-protein, α -gustducin, in pancreatic β -cells. *Journal of Diabetes Investigation*. 2020. V. 11 (4). P. 814–822.
<https://doi.org/10.1111/jdi.13214>
- Wallin T., Ma Z., Ogata H., Jørgensen I.H., Iezzi M., Wang H., Wollheim C.B., Björklund A. Facilitation of fatty acid uptake by CD36 in insulin-producing cells reduces fatty-acid-induced insulin secretion and glucose regulation of fatty acid oxidation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2010. V. 1801 (2). P. 191–197.
<https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2009.11.002>
- Wong G.T., Gannon K.S., Margolskee R.F. Transduction of bitter and sweet taste by gustducin. *Nature*. 1996. V. 381. P. 796–800.
- Wong S.T., Trinh K., Hacker B., Chan G.C., Lowe G., Gaggar A., Xia Z., Gold G.H., Storm D.R. Disruption of the type III adenylyl cyclase gene leads to peripheral and behavioral anosmia in transgenic mice. *Neuron*. 2000. V. 27 (3). P. 487–497.
[https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)00060-x](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)00060-x)
- Xue T., Do M.T., Riccio A., Jiang Z., Hsieh J., Wang H.C., Merbs S.L., Welsbie D.S., Yoshioka T., Weissgerber P., Stolz S., Flockerzi V., Freichel M., Simon M.I.,

- Clapham D.E., Yau K.W. Melanopsin signalling in mammalian iris and retina. *Nature*. 2011. V. 479 (7371). P. 67–73.
<https://doi.org/10.1038/nature10567>
- Yau K.W., Hardie R.C. Phototransduction motifs and variations. *Cell*. 2009. V. 139 (2). P. 246–264.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.09.029>
- Zhang D., So W.Y., Wang Y., Wu S.Y., Cheng Q., Leung P.S. Insulinotropic effects of GPR120 agonists are altered in obese diabetic and obese non-diabetic states. *Clinical Science (London, England:1979)*. 2017. V. 131 (3). P. 247–260.
<https://doi.org/10.1042/CS20160545>
- Zhang Y., Hoon M.A., Chandrashekar J., Mueller K.L., Cook B., Wu D., Zuker C.S., Ryba N.J. Coding of sweet, bitter, and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell*. 2003. V. 112 (3). P. 293–301.
[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00071-0](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00071-0)
- Zigman J.M., Westermark G.T., LaMendola J., Boel E., Steiner D.F. Human G(olf) alpha: complementary deoxyribonucleic acid structure and expression in pancreatic islets and other tissues outside the olfactory neuroepithelium and central nervous system. *Endocrinology*. 1993. V. 133 (6). P. 2508–2514.
<https://doi.org/10.1210/endo.133.6.8243272>
- Zigman J.M., Westermark G.T., LaMendola J., Steiner D.F. Expression of cone transducin, Gz alpha, and other G-protein alpha-subunit messenger ribonucleic acids in pancreatic islets. *Endocrinology*. 1994. V. 135 (1). P. 31–37.
<https://doi.org/10.1210/endo.135.1.8013366>