

ОБЗОРНЫЕ И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ
ПО ЛИПИДОЛОГИИ

GPR40/FFA1-РЕЦЕПТОРЫ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ
И ИХ ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ

© 2020 г. Р. Г. Парнова*

*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия*

**E-mail: rimma_parnova@mail.ru*

Поступила в редакцию 03.03.2020 г.

После доработки 08.03.2020 г.

Принята к публикации 17.03.2020 г.

Эндогенными лигандами GPR40/FFA1-рецепторов, принадлежащих к типу G-белок-связанных рецепторов, являются насыщенные и ненасыщенные свободные жирные кислоты средней (C6–C12) и длинной (C > 12) структуры. Самый высокий уровень экспрессии этих рецепторов обнаружен в β -клетках поджелудочной железы и нейронах различных отделов ЦНС. С момента “деорфанизации” рецепторов в 2003 г. накоплен огромный объем экспериментальных данных, касающийся функциональной роли этих рецепторов в центральной и периферической регуляции метаболического статуса организма. В настоящем обзоре обобщены современные представления о механизмах регуляции GPR40/FFA1-рецептора эндогенными и синтетическими лигандами, о системах внутриклеточной сигнальной трансдукции, активируемых при действии свободных жирных кислот. Рассматриваются механизмы GPR40/FFA1-опосредованных эффектов свободных жирных кислот на глюкозо-стимулированную секрецию инсулина β -клетками поджелудочной железы, продукцию инкретинных энтероэндокринными клетками, обеспечение нейрогенеза и нейродифференцировки. Обсуждаются достижения и перспективы использования синтетических лигандов GPR40/FFA1-рецепторов в лечении метаболических нарушений.

Ключевые слова: свободные жирные кислоты, GPR40/FFA1-рецепторы, секреция инсулина, инкретины, нейроны, нейрогенез, аллостерическая регуляция

DOI: 10.31857/S0869813920050088

Почти 40 лет назад вышла книга “Липиды клеточных мембран”, автором которой был Евгений Михайлович Крепс, академик, один из наиболее глубоких и авторитетных исследователей разнообразия природных липидов. И сегодня, по прошествии многих лет этот фундаментальный труд, беспрецедентный по объему данных и многообразию исследованных видов, сохраняет свою ценность для липидологии и сравнительной нейробиологии. Значительная часть исследований, проведенных Е.М. Крепсом и его сотрудниками, была посвящена эстерифицированным жирным кислотам, входящим в состав фосфолипидов, цереброзидов и ганглиозидов. Экспериментальный материал, полученный на более чем 130 видах рыб, обитающих при различной температуре, давлении, позволил рассматривать вариации набора жирных кислот, входящих в состав мембранных липидов, как важнейший фактор поддержания стабильности физико-химического состояния мембраны, определяющий границы возможности существования организма в экстремальных

условиях [1]. К 80-м годам прошлого века уже были открыты эйкозаноиды, производные полиненасыщенных жирных кислот, и было понятно, что биологическая функция жирных кислот не исчерпывается их структурной ролью в организации биологических мембран или их значением как энергетических субстратов. Однако о регуляторных эффектах свободных жирных кислот в это время было ничего неизвестно, да и сама наука о рецепторах находилась на заре своего развития.

Между тем, открывшиеся в конце XX века возможности генетики, молекулярной биологии и биоинформатики обеспечили колоссальный прорыв в исследовании механизмов регуляции физиологических функций. Традиционно исследование алгоритма сигнального действия того или иного регулятора шло в направлении от известного лиганда к поиску его рецептора. Открывшиеся возможности анализа геномов позволили изменить вектор исследований в обратном направлении — по структурному сходству с уже идентифицированными рецепторами было выявлено огромное количество последовательностей, кодирующих рецепторы, лиганд которых был неизвестен. Такие рецепторы были названы орфановыми (от англ. *orphan* — сирота). Они принадлежали к двум основным классам — ядерным рецепторам и рецепторам, функционально сопряженным с гетеротримерными G-белками (G-protein coupled receptor, GPCR). Из обширного суперсемейства GPCR в результате расшифровки генома человека было идентифицировано около 720 генов, кодирующих эти рецепторы [2], для значительной их части лиганд был неизвестен. Орфановые рецепторы такого типа получали название GPR (G-Protein Receptor), которым присваивался соответствующий номер.

В результате масштабных исследований по “деорфанизации” GPCR-рецепторов оказалось, что лигандами четырех из них являются свободные жирные кислоты — насыщенные и ненасыщенные с разной длиной углеводородной цепи. Согласно классификации Международного союза фармакологов, после деорфанизации эти рецепторы получили название FFA1–4 [3]¹. Рецепторы GPR40 (FFA1) и GPR120 (FFA4) активируются насыщенными и ненасыщенными свободными жирными кислотами со средними (C6–C12) и длинными (C > 12) жирнокислотными цепями. Агонистами рецепторов GPR41 (FFA2) и GPR43 (FFA3) являются очень короткие жирные кислоты (C2–C4), образующиеся в процессе ферментации пищевых волокон под действием кишечной микробиоты. Дальнейшие исследования показали, что новый тип активаторов GPCR вовлечен в регуляцию множества важнейших физиологических процессов. В настоящем обзоре нет возможности даже кратко рассмотреть все достижения в этой области, поэтому внимание будет сосредоточено на самых важных и интересных результатах, касающихся одного из наиболее изученных рецепторов свободных жирных кислот, а именно GPR40.

“ДЕОРФАНИЗАЦИЯ” РЕЦЕПТОРОВ GPR40

Впервые нуклеотидная и аминокислотная последовательности этого белка, позволяющие отнести его к семейству GPCR, была определена в 1997 г. [4]. С помощью ПЦР участки геномной ДНК человека, имеющей хромосомную локализацию 19q13.1, были амплифицированы с использованием праймеров, специфичных к консервативным участкам рецептора нейроэндокринного пептида галанина человека и крысы, в результате чего были идентифицированы 4 гена, кодирующие неизвестные GPCR (GPR40, GPR41, GPR42 и GPR4) [4]. GPR40 является мембранным белком, содержащим 300 аминокислотных остатков и имеющим молекулярную массу 31.45 kDa. Проведенное через несколько лет сравнительное исследование ами-

¹ В современной литературе широко используется несколько вариантов названия этого типа рецептора — GPR40, FFA1 или GPR40/FFA1.

нокислотной последовательности этого рецептора у человека и нескольких видов млекопитающих показало очень высокую степень его консервативности [5].

Три независимые исследовательские группы практически одновременно “деорфанизовали” GPR40 [5–7]. Используя клетки CHO, в которых были экспрессированы GPR40, и стандартные приемы “деорфанизации” рецепторов, основанные на оценке уровня внутриклеточного кальция, Iton с соавторами проанализировали более 1000 предполагаемых лигандов [5]. Практически одновременно подобная работа была проведена другими авторами на рецепторах GPR40, экспрессированных в клетках HEK293 [6], и на клонах линии клеток HeLa с помощью высокоэффективной технологии введения репортерного гена [7]. Результаты совпали – селективными лигандами этих рецепторов оказались свободные жирные кислоты со средними и длинными углеводородными цепями, действующие в диапазоне микромолярных концентраций (EC_{50} от 1 до 8 мкМ по данным [5], или EC_{50} от 4 до 6 мкМ по данным [6]). Аффинность к рецептору не изменялась при удлинении цепи или при увеличении степени ненасыщенности молекулы. Действие жирных кислот на изменение $[Ca^{2+}]_i$ было дозозависимым, опосредовалось ГТФ-связывающим белком $G\alpha_{q/11}$ и критично зависело от присутствия свободной карбоксильной группы на конце молекулы, поскольку метиловые эфиры жирных кислот были неэффективны [5–7].

РОЛЬ GPR40 РЕЦЕПТОРОВ В ГЛЮКОЗО-СТИМУЛИРОВАННОЙ ПРОДУКЦИИ ИНСУЛИНА

Уже в первых работах по “деорфанизации” GPR40 были получены неожиданные результаты при изучении экспрессии мРНК этого белка в разных тканях. В исследованиях на крысах было показано, что мРНК GPR40 обнаруживается главным образом в островках Лангерганса поджелудочной железы, а гибридизация *in situ* и иммуногистохимия позволили определить точную локализацию GPR40 – панкреатические β -клетки, продуцирующие инсулин [5, 6, 8].

На линии MIN6 трансформированных панкреатических клеток мышей, обладающих всеми свойствами β -клеток, была убедительно показана способность этих агонистов стимулировать продукцию инсулина в присутствии высоких концентраций глюкозы [5], что позволило отнести этот механизм к глюкозо-стимулированной секреции инсулина. Торможение экспрессии GPR40 с помощью siRNA или бессмысловых олигонуклеотидов в клетках MIN6 резко снижало эффект жирных кислот на продукцию инсулина [5, 9, 10]. Значительное снижение потенцирующего действия жирных кислот на глюкозо-стимулированную секрецию инсулина наблюдалось у мышей-нокауты по GPR40 [11], тогда как гиперэкспрессия GPR40 у мышей, находящихся на высокожировой диете, предотвращало развитие гипергликемии и улучшало секрецию инсулина [12]. Данные на животных моделях были подтверждены результатами анализа экспрессии рецептора в β -клетках поджелудочной железы человека, при этом уровень экспрессии мРНК GPR40 хорошо коррелировал с инсулинемическим индексом – показателем функции β -клеток [8].

Эти данные заставили по-новому рассматривать действие жирных кислот на продукцию инсулина. Долгое время считалось, что в основе стимулирующего эффекта жирных кислот на продукцию инсулина лежит исключительно их внутриклеточный окислительный катаболизм, приводящий к увеличению соотношения АТФ/АДФ, закрытию АТФ-управляемых K^+ -каналов, деполяризации плазматической мембраны, открытию L-типа кальциевых каналов, что приводит к повышению уровня внутриклеточного кальция, перестройке цитоскелета, транслокации секреторных гранул к плазматической мембране и секреции находящегося в них инсулина в кровотоки (см. обзор [13]). “Деорфанизация” GPR40 показала, что сво-

бодные жирные кислоты участвуют в регуляции секреции инсулина не только как энергетические субстраты, но являются также сигнальными молекулами, которые имеют на поверхности клеток собственные рецепторы. Считается, что оба механизма действия жирных кислот (как лиганды и как метаболические субстраты) функционируют независимо и вносят примерно равный вклад в потенциацию глюкозо-стимулированной секреции инсулина [14]. Это следует из того, что у мышей нокаутных по GPR40 секреция инсулина была снижена только на 50% [15].

МЕХАНИЗМ СИГНАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В РЕГУЛЯЦИИ ГЛЮКОЗО-СТИМУЛИРОВАННОЙ СЕКРЕЦИИ ИНСУЛИНА, ОПОСРЕДОВАННОЙ АКТИВАЦИЕЙ GPR40

GPR40-опосредованное внутриклеточное действие свободных жирных кислот на глюкозо-стимулированную секрецию инсулина β -клетками поджелудочной железы связано с повышением концентрации внутриклеточного кальция за счет его мобилизации из эндоплазматического ретикулума и усиления входа в клетку через потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа [16–18]. Таким образом, конечные мишени эффекта жирных кислот, действующих как сигнальные молекулы или как энергетические субстраты, оказываются общими и связаны с повышением внутриклеточной концентрации ионов кальция, вызываемом различными механизмами.

Глюкозо-стимулированная секреция инсулина в β -клетках является двухфазным процессом – быстрая и короткая фаза ответа связана с выбросом готовых гранул, находящихся в непосредственной близости от плазматической мембраны, вторая более длительная фаза – мобилизация гранул инсулина, которые находятся вдали от плазматической мембраны, и их перемещение в субапикальную область требует реорганизации цитоскелета [19, 20]. Считается, что свободные жирные кислоты стимулируют именно вторую фазу [14]. При GPR40-опосредованном действии свободных жирных кислот $\alpha_{q/11}$ -субъединица $G_{q/11}$ -белка активирует фосфоинозитид-специфичную фосфолипазу $C\beta$, что приводит к гидролизу фосфатидилинозит-4,5-дифосфата с образованием инозитол-1,4,5-трифосфата (IP_3) и диацилглицерина [6, 9]. IP_3 усиливает выход кальция из эндоплазматического ретикулума β -клеток [21]. Введение проникающих аналогов как IP_3 , так и диацилглицерина (олеоил-ацил-глицерин), в клетки MIN6 потенцирует глюкозо-стимулированную секрецию инсулина [18]. Ингибиторы фосфолипазы $C\beta$, форбол-чувствительных изоформ протеинкиназы C значительно снижали действие экзогенной жирной кислоты на секрецию инсулина [16]. Было установлено также, что при действии олеиновой кислоты на GPR40 диацилглицерин-зависимым механизмом осуществляется фосфорилирование протеинкиназы D, что, как показали авторы [22], необходимо для активации деполимеризации F-актина – перестройке цитоскелета, обеспечивающей транслокацию гранул инсулина к плазматической мембране. Ингибирование активности или экспрессии протеинкиназы D значительно снижало GPR40-опосредованное действие жирной кислоты на глюкозо-стимулированную секрецию инсулина [22]. Принципиальная схема внутриклеточных сигнальных путей активации секреции инсулина при GPR40-опосредованном действии свободных жирных кислот, а также синтетического агониста фасигликама (TAG-875), представлена на рис. 1.

В увеличении концентрации внутриклеточного кальция при действии свободных жирных кислот задействована активация рецептора IP_3 на мембране эндоплазматического ретикулума. Нокдаун рецептора в клетках MIN6, или применение ксестоспонгина C, ингибитора IP_3 рецептора, в опытах на срезах островков Лангерганса приводили к резкому снижению эффекта жирных кислот на глюкозо-стимулированную секрецию инсулина [23]. Однако оказалось также, что в потен-

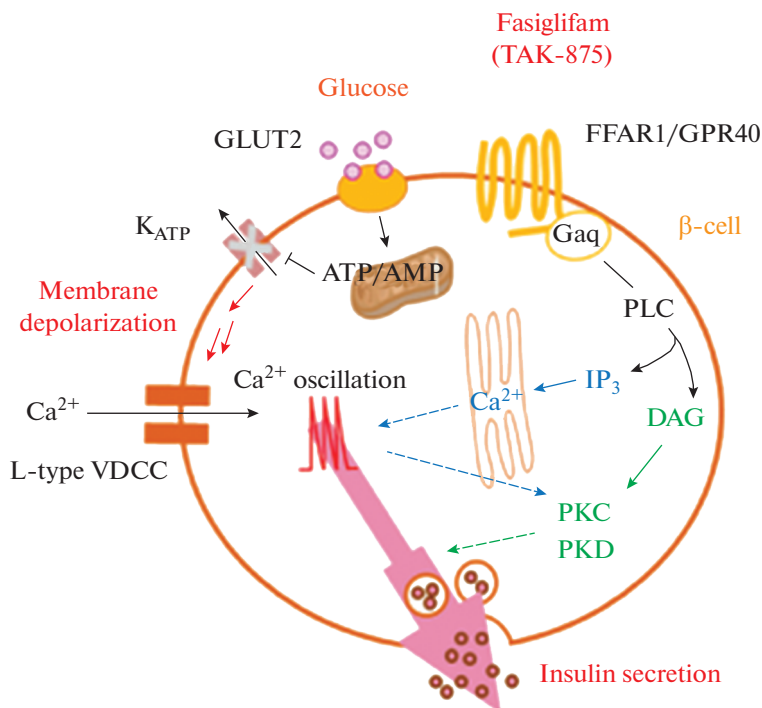


Рис. 1. Участие GPR40 рецепторов в регуляции секреции инсулина β-клетками поджелудочной железы при действии свободных жирных кислот и TAG-875 (фасиглифама). Обозначения: GLUT2 – транспортер глюкозы, VTCC – потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа, PKD – фосфолипаза D, PLC – фосфолипаза C, PKC – протеинкиназа C, DAG – диацилглицерин, IP₃ – инозитол-1,4,5-трифосфат. Цит. по [18] с разрешения издателя.

Fig. 1. The participation of GPR40 receptor in the regulation of insulin secretion by pancreatic β-cells under the action of free fatty acids and TAG-875 (fasiglifam). Abbreviations: GLUT2 – glucose transporter, VTCC – voltage-dependent calcium channel L-type, PKD – phospholipase D, PLC – phospholipase C, PKC – protein kinase C, DAG – diacylglycerol, IP₃ – inositol-1,4,5-trisphosphate. From [18] with publisher permission.

цирующем действии жирных кислот на секрецию инсулина задействован депоуправляемый вход кальция (store-operated Ca²⁺ entry, SOCE), который инициируется истощением резерва кальция в структурах эндоплазматического ретикулума. Регулятором SOCE является белок stromal interaction molecule 1 (STIM1), локализованный в мембране эндоплазматического ретикулума и являющийся сенсором концентрации кальция внутри ретикулума благодаря наличию специфического Ca²⁺-связывающего домена. Ca²⁺-зависимая транслокация STIM1 в плазматическую мембрану активирует находящиеся в ней кальциевые каналы Orai1, что обеспечивает вход наружного кальция [24]. Экспрессия STIM1 обнаружена в клетках MIN6 и в панкреатических β-клетках мышей, а его транслокация в этих клетках активируется глюкозой или цАМФ [25, 26]. Оказалось, что нокадаун STIM1 или Orai1 в клетках MIN6 приводит к резкому снижению эффекта агониста GPR40 на глюкозо-стимулированную секрецию инсулина [23]. Критичная роль STIM1–Orai1 механизма в сигнальном пути, активируемым GPR40, была продемонстрирована и на нокаутных мышах, у которых специфично в β-клетках была выключена экспрессия STIM1 [23].

АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ МОДУЛЯТОРЫ GPR40 И ИХ ПОТЕНЦИАЛ В ЛЕЧЕНИИ ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА

“Деорфанизация” GPR40 тремя независимыми группами и обнаруженный эффект жирных кислот на глюкозо-стимулированную секрецию инсулина незамедлительно после публикации в 2003 г. экспериментальных данных оказались в фокусе интереса фармацевтической индустрии. Наибольших успехов в поиске и разработке фармакологических активаторов GPR40 в лечении сахарного диабета 2-го типа достигла японская фармацевтическая компания Takeda, препарат которой (ТАК-875/фасиглифам) дошел до третьей фазы клинических испытаний [27]. В отличие от многих других препаратов, используемых при диабете 2-го типа, фасиглифам и его аналоги стимулируют продукцию инсулина только при повышенном уровне глюкозы, что минимизируют риск развития гипогликемии. Однако в 2013 г. программа ТАК-875 была остановлена из-за выявленной на более широкой популяции пациентов гепатотоксичности [28], причины которой до сих пор не ясны, так как в печени GPR40 не экспрессируются [5, 6]. Несмотря на эту неудачу в настоящее время большое число синтетических агонистов GPR40 рецепторов производятся различными фармацевтическими компаниями (Eli Lilly, Connexios Life Sciences, Japan Tobacco, Rigamal и др.) и многие из них находятся на стадии доклинических испытаний на животных моделях сахарного диабета 2-го типа.

Направление поиска оптимальной структуры для таких синтетических лигандов во многом было обусловлено обнаружением аллостерической модуляции активности GPR40, что свойственно огромному большинству представителей семейства GPCR [29]. Первоначально считалось, что жирные кислоты и синтетические лиганды GPR40 взаимодействуют с единственным лиганд-связывающим участком рецептора, состоящим из кластера гидрофильных аминокислотных остатков (Arg183, Asn244 и Arg258) соответственно в 5, 6 и 7 гидрофобных трансмембранных участках, с которыми и связывается карбоксильная группа жирной кислоты или синтетического лиганда [30]. Однако в экспериментах с радиоактивно-меченными лигандами было установлено наличие нескольких различных аллостерических сайтов регуляции GPR40, с которыми способны связываться синтетические лиганды [31]. Некоторые лиганды, например ТАК-875, являются одновременно и ортостерическим и аллостерическим регулятором GPR40, что, по-видимому, определяет его высокую аффинность к рецептору, в 400 раз превосходящую аффинность эндогенного лиганда – олеиновой кислоты [27]. Была установлена кристаллическая структура комплекса рецептора GPR40 и ТАК-875 [32]. Как и ожидалось, карбоксильная группа лиганда действительно взаимодействует с остатками аргинина в 5-ом и 7-ом трансмембранных участках. Однако другая часть лиганда локализуется вдоль липидного бислоя и проникает внутрь между 3-им и 5-ым трансмембранными участками. Таким образом, ТАК-875 взаимодействует с неканоническим сайтом связывания через липидный бислой, а не со стороны водной фазы [32]. Считается, что именно с высокой липофильностью ТАК-875 связана его гепатотоксичность, по причине которой была остановлена третья фаза клинических испытаний препарата. В соответствии с этим, одно из направлений поиска новых инсулинотропных лигандов GPR40 связано с разработкой соединений, обладающих существенно большей полярностью, чем ТАК-875, при сохранении высокого сродства к рецептору [33].

Большинство синтетических лигандов GPR40 являются аллостерическими модуляторами, применение которых основано на множественности лиганд-связывающих участков и их функциональной селективности. Аллостерические модуляторы демонстрируют высокую степень сигнальной пластичности GPR40 и обладают преимуществами по сравнению с ортостерическими агонистами, так как могут специфично менять или стабилизировать конформационные изменения рецептора, в

том числе вызванные ортостерическим агонистом, обеспечивать сопряжение с различными G-белками или даже активировать G-белок-независимый сигналинг через сопряжение с регуляторными белками β -аррестинами, что может иметь критическое значение для переключения направления сигналинга или его усиления [14]. Этот феномен получил название “лиганд-направленный сигналинг”. Так, инсулинотропный эффект TAK-875 опосредуется как через $G_{q/11}$ -белки, так и через рекрутирование β -аррестинов 1 и 2 типов. Нокдаун β -аррестина 2 с помощью siRNA в клетках инсулиномы крысы INS832 ослаблял инсулинотропный эффект агониста [34]. Синтезированы агонисты GPR40 (AM-1638 и AM-5262), которые в одних и тех же клетках активируют и G_s - и $G_{q/11}$ -белки, вызывая соответственно увеличение цАМФ и IP_3 , и оказывая кооперативный инсулинотропный эффект, хотя жирные кислоты, эндогенные лиганды GPR40, действуют только через $G_{q/11}$ -белки [35]. Конструирование аллостерических агонистов позволяет воздействовать специфично на те сигнальные пути, которые необходимы для терапевтического эффекта, и избежать активации тех, которые могут приводить к нежелательным побочным воздействиям. Особенно успешным в экспериментах *in vivo* на моделях диабетических крыс оказалось использование комбинаций аллостерических агонистов, имеющих разные сайты связывания с рецептором, но оказывающих кооперативный инсулинотропный эффект [31]. Другой многообещающий подход – конструирование “битопических” лигандов [36]. Эти соединения имеют два фармакофора, соединенных между собой – один из них связывается с ортостерическим лиганд-связывающим карманом GPR40, другой одновременно взаимодействует с аллостерическими сайтами в молекуле рецептора. Интересно, что кооперативность обнаруживается не только при использовании комбинации синтетических лигандов. Инсулинотропный эффект TAK-875 на модели диабетических крыс снижался в присутствии ингибитора липолиза, что приводило к снижению уровня жирных кислот в плазме [37]. Это свидетельствует в пользу того, что синтетические агонисты, по крайней мере TAK-875, не вытесняют жирные кислоты с рецептора, а действуют кооперативно с эндогенными лигандами.

РОЛЬ GPR40 В СЕКРЕЦИИ ИНКРЕТИНОВ

Прямое действие жирных кислот на клетки поджелудочной железы, как оказалось, не единственный механизм их участия в глюкозо-стимулированной секреции инсулина. GPR40 рецепторы экспрессируются в L, K и I клетках кишечника, секретирующих глюкагоноподобный пептид-1, глюкозо-зависимый инсулинотропный пептид и холецистокинин, участвующие в регуляции секреции инсулина [38, 39]. Так как поступление пищи в желудочно-кишечный тракт является мощным стимулом секреции инсулина, энтероэндокринные клетки экспрессируют целый спектр рецепторов, активируемых продуктами липолиза триглицеридов. Помимо GPR40, в энтероэндокринных клетках экспрессируются рецепторы свободных жирных кислот GPR120, GPR41, GPR43, а также GPR119, эндогенным лигандом которого является моноацилглицерин [40]. Роль GPR40 в секреции инкретиннов значительно менее понятна, чем в отношении β -клеток поджелудочной железы, так как разные типы рецепторов работают кооперативно [40]. Однако показано, что у нокаутных по GPR40 мышей наблюдается сниженный уровень инкретиннов [38, 39, 41]. Не все синтетические агонисты GPR40, которые увеличивают секрецию инсулина в β -клетках, например TAK-875 и AMG837, способны влиять на секрецию инкретиннов [42]. Похоже, что этим эффектом обладают только полные агонисты. Предполагается, что с одной стороны это может быть связано со значительно более низким уровнем экспрессии рецептора в энтероэндокринных клетках, с другой стороны – с активацией различных сигнальных каскадов, стимулируемых полны-

ми агонистами [43]. Так, эффективные в отношении секреции инкретинных агонисты (AM1638 и AM5262) активируют как $G\alpha_{q/11}$ - и $G\alpha_s$ -опосредованные сигнальные пути, тогда как неэффективные – только $G\alpha_{q/11}$ -опосредованные.

ЭКСПРЕССИЯ GPR40 И ЕГО ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ В СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА

В науке о липидах головной мозг занимает особое место. У всех позвоночных животных он отличается от других тканей очень высоким содержанием липидов, уступая в этом только жировой ткани, и входящих в их структуру длинноцепочечных полиеновых жирных кислот – докозагексаеновой и арахидоновой, сумма которых в мозгу человека составляет около половины всех жирных кислот. Поскольку мозг обладает очень ограниченной способностью к синтезу полиненасыщенных жирных кислот, их высокий уровень в этой ткани достигается постоянным поступлением из плазмы крови. В связи с этим не вызывает удивления тот факт, что для мозга характерен чрезвычайно высокий уровень экспрессии рецепторов GPR40. Уже в самых первых работах по “деорфанизации” рецептора было установлено, что из всех исследованных органов по уровню экспрессии GPR40 резко выделяются два – поджелудочная железа и мозг [6]. Последующие работы выявили локализацию GPR40 в нейронах различных структур мозга – гипоталамусе, гиппокампе, гиппофизе, коре, хвостом ядре, черной субстанции, продолговатом мозгу и др. [6, 44, 45]. Применяя два основных экспериментальных подхода на моделях *in vivo* – использование селективных агонистов/антагонистов рецепторов и нокаутных по GPR40 мышей, удалось убедиться в том, что эти рецепторы обеспечивают многие важнейшие эффекты жирных кислот в структурах ЦНС. В отличие от β -клеток поджелудочной железы действие свободных жирных кислот на GPR40 рецепторы в нейрональных клетках связано с изменением экспрессии генов, опосредуемой активацией Akt-киназы, ERK1/2 киназ и фосфорилированием цАМФ-активируемого транскрипционного фактора CREB [46–48].

Нейроны контролируют энергетический баланс организма, осуществляя мониторинг концентрации в плазме крови жирных кислот. Один из важнейших механизмов переработки информации о метаболическом статусе связан с процессами внутриклеточного метаболизма жирных кислот в нейрональной клетке, β -окислением, продукцией АТФ и активацией АТФ-регулируемых калиевых каналов. Вызываемое фармакологическими агентами изменение метаболизма жирных кислот в аркуатном ядре гипоталамуса (ингибирование транспортеров жирных кислот, карнитин-пальмитоил-трансферазы 1, ацил-КоА-синтазы) приводит к изменению пищевого поведения, массы тела, метаболизма, секреции инсулина [49, 50]. При церебровентрикулярном введении олеиновой кислоты, но не короткоцепочечных жирных кислот, наблюдается уменьшение потребления пищи и продукции глюкозы печенью [51]. Важнейшая роль в мониторинге уровня свободных жирных кислот в плазме крови принадлежит нейронам аркуатного ядра гипоталамуса, продуцирующим нейропептид Y и про-опиомеланокортин (POMC) [52]. Именно в этих нейронах обнаружен самый высокий уровень экспрессии GPR40 рецепторов и убедительно показано, что эффекты жирных кислот на активность нейронов и регуляцию энергетического статуса опосредуются не только продуктами их внутриклеточного метаболизма, но и поверхностными рецепторами [53, 54]. В гипоталамусе выявлена и экспрессия рецепторов GPR120, сходных с GPR40 по химической структуре лигандов, однако GPR120 локализованы, главным образом, в клетках микроглии [54]. Специфическая локализация двух типов рецепторов жирных кислот в гипоталамусе подтверждена и на клеточных культурах – в клеточной линии

нейронов гипоталамуса CLU189 экспрессируется GPR40, но не GPR120, а в BV2, культуре микроглиальных клеток – только GPR120 [54].

С различиями в локализации GPR40 и GPR120 в клетках гипоталамуса связана, по всей вероятности, и их специфическая функциональная роль. Известно, что высоко-жировая диета, способствуя ожирению и диабету 2-го типа, активирует воспалительные процессы во многих тканях организма, в том числе в гипоталамусе [55] и гиппокампе [56]. Особенно остро реакции воспаления развивается в ответ на избыточное потребление насыщенных жирных кислот [57], таких как пальмитиновая 16 : 0, стеариновая 18 : 0 и арахидовая 20 : 0. В гипоталамусе активация провоспалительных генов наблюдается уже спустя несколько часов после потребления высокожировой пищи [58], а более продолжительная высокожировая диета приводит к стрессу эндоплазматического ретикулума [59], повреждению митохондрий и апоптозу нейрональных клеток [60]. Как было показано, воспалительные эффекты насыщенных жирных кислот связаны с активацией TLR4-опосредованных сигнальных путей, в которых задействованы “классические” провоспалительные киназы и транскрипционные факторы [61, 62]. В отличие от насыщенных, полиненасыщенные жирные кислоты обладают мощным нейропротективным действием, которое было продемонстрировано в многочисленных работах *in vivo* и *in vitro*. Добавление в диету мышей с ожирением полиненасыщенных жирных кислот или их непосредственное введение в гипоталамус уменьшает течение воспалительных процессов и улучшает метаболические показатели [63]. Считается, что оба типа рецепторов свободных жирных кислот (GPR40 и GPR120) задействованы в противовоспалительных эффектах в гипоталамусе, однако только агонист GPR40 вызывал увеличение экспрессии про-опиомеланокортина, снижение массы тела и потребления калорий [54]. Это свидетельствует о том, что мониторинг уровня свободных жирных кислот в плазме крови и регуляция энергетического статуса, осуществляемые NPY- и POMC-ергическими нейронами, обеспечивается, по крайней мере, частично, рецепторами GPR40.

Метаболические нарушения находятся в тесной этиологической связи с когнитивными расстройствами и психическими заболеваниями. Многочисленная статистика свидетельствует о том, что ожирение и метаболический синдром, обусловленные в том числе распространением “западной диеты”, содержащей в большом количестве насыщенные жиры и бедной $\omega 3$ жирными кислотами, способствуют ухудшению когнитивных функций и развитию деменции [64, 65]. Хотя механизмы этой взаимосвязи до сих пор не выяснены, GPR40-опосредуемый сигналинг привлекает большое внимание нейрофармакологов, а рецепторы GPR40 рассматриваются как мишени для терапии когнитивных расстройств.

Так, на мышинных моделях диабета 2-го типа (высокожировая диета и линия *db/db*) показано, что у этих животных по сравнению со здоровыми уменьшена экспрессия рецепторов GPR40 в гиппокампе и снижены когнитивные способности [48]. Важным связующим звеном этих патологических процессов оказался нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), который помимо того, что является одним из важнейших ростовых факторов в ЦНС и участвует CREB-зависимым механизмом в формировании памяти, принимает участие в контроле энергетического баланса [66, 67]. У диабетических мышей экспрессия BDNF значительно снижена [48]. Показано, что негативное действие высококалорийной диеты на пространственное обучение мышей вызывается снижением экспрессии BDNF в гиппокампе [68]. Торможение экспрессии BDNF в гипоталамусе вызывает гиперфагию и ожирение у мышей, свидетельствуя о том, что BDNF также действует как анорексигенная сигнальная молекула [69]. На первичной культуре кортикальных нейронов с помощью различных подходов показано, что докозагексаеновая кислота усиливает экспрессию BDNF через рецепторы GPR40, активируя ERK1/2-

и MAPK-опосредуемые сигнальные каскады. Добавление в рацион диабетических мышей докозагексаеновой кислоты или GW9508, синтетического агониста GPR40, приводило к нормализации уровня экспрессии BDNF и улучшению когнитивных функций, тогда как интрацеребровентрикулярное введение диабетическим мышам антагониста GPR40, GW1100, ослабляло полезные эффекты жирной кислоты на улучшение когнитивных функций и экспрессию BDNF в гиппокампе [48]. На мышинных моделях болезни Альцгеймера внутримозговое введение GW9508, агониста GPR40, улучшало память и способность животных к обучению. Активация рецепторов приводила к фосфорилированию транскрипционного фактора CREB, значительному увеличению продукции различных нейротрофических факторов в нейронах гиппокампа и стимулировала нейрогенез [47].

Полиненасыщенные жирные кислоты, прежде всего $\omega 3$ ряда, играют важнейшую роль в обеспечении нейрогенеза и функционирования нервных клеток на всех стадиях онтогенеза, в процессах формирования памяти, обучения, психического поведения. Дефицит поступления полиненасыщенных жирных кислот в организм приводит к серьезным нарушениям работы ЦНС, которые являются причинами нейродегенерации и психических нарушений [70–72]. Хотя механизм этого остается не до конца выясненным, имеются данные о вовлечении GPR40 в регуляцию широкого круга психических процессов. Так, самки мышей, выращенные на сбалансированной жировой диете, но нокаутные по GPR40, демонстрируют нарушения эмоционального статуса, социального поведения, локомоторной активности, ухаживания за потомством [73].

Показано, что GPR40-зависимый сигнальный путь, активируемый докозагексаеновой кислотой, играет важную роль в процессах нейрогенеза и нейродифференцировки в нейrogenных нишах, поддерживая регенеративный потенциал головного мозга [44]. В культуре нейральных стволовых клеток крысы докозагексаеновая кислота, действуя через активацию GPR40, стимулировала дифференцировку нейронов и рост аксонов. Эффект жирной кислоты в этом типе клеток опосредовался классическим для данного типа рецепторов механизмом – активацией фосфолипазы C β и мобилизацией внутриклеточного кальция [74].

Имеются данные о том, что GPR40-рецепторы играют важную роль в процессах модуляции ноцицепции. Докозагексаеновая кислота, а также GW9508, синтетический агонист GPR40, обладают антиноцицептивным эффектом: они тормозят передачу болевых стимулов, увеличивая продукцию β -эндорфина в аркуатном ядре гипоталамуса и активируя опиатную систему [45]. На мышах нокаутных по GPR40 было показано, что дисфункция этой рецепторной системы приводит к развитию хронической боли [75].

РОЛЬ GPR40 РЕЦЕПТОРОВ В ЛИПОТОКСИЧНОСТИ

Многочисленные результаты четко указывают на то, что повышенные уровни свободных жирных кислот, вызванные избыточным количеством жировой ткани – если не первая, то, по крайней мере, одна из главных причин возникновения инсулиновой резистентности. Большинство пациентов, страдающих ожирением, метаболическим синдромом и диабетом 2-го типа, имеют повышенные уровни свободных жирных кислот, что приводит к инсулиновой резистентности многих тканей. Длительная инкубация β -клеток поджелудочной железы со свободными жирными кислотами приводит к потере жизнеспособности β -клеток и снижению глюкозо-стимулированной продукции инсулина [76, 77]. Этот же эффект наблюдается *in vivo* при длительном поддержании высокого уровня жирных кислот в плазме крови [78, 79]. Наблюдаемое при этом снижение глюкозо-стимулированной продукции инсулина клетками поджелудочной железы связывают с внутриклеточными эффектами жир-

ных кислот, например с дисбалансом цикла Рэндла [76], продукцией активных форм кислорода [80], стрессом эндоплазматического ретикулаума [81].

Хотя токсический эффект хронического действия высоких концентраций жирных кислот убедительно продемонстрирован, вопрос о вовлечении GPR40 в нарушения метаболизма, вызванные высоким содержанием жирных кислот в плазме крови, далек от окончательного решения, а экспериментальные данные противоречивы. Согласно одним данным, рецепторы GPR40 опосредуют липотоксические эффекты жирных кислот. Так, β -клетки, выделенные из мышей нокаутных по GPR40, не подвержены негативному действию жирных кислот при их длительном воздействии, а повышенная экспрессия рецептора в этих клетках приводит к их повреждению и снижению выработки инсулина [82]. Длительная инкубация клеток линии MIN6 β с пальмитиновой кислотой вызывает стресс эндоплазматического ретикулаума и апоптоз, однако, фармакологическая инактивация GPR40-рецепторов защищает клетки от негативного эффекта жирной кислоты [81].

Однако по другим данным токсические эффекты свободных жирных кислот не опосредуются рецепторами GPR40. Высокожировая диета вызывала повреждение β -клеток поджелудочной железы и тормозила глюкозо-стимулирующую продукцию инсулина в одинаковой степени у мышей дикого типа и нокаутных по GPR40 [83]. Кроме того, серьезные отличия в токсических эффектах жирных кислот разной структуры противоречат их сходным величинам аффинности к рецептору [80].

Важно, что токсическое действие характерно только для насыщенных жирных кислот с длиной цепи $C > 14$. Ненасыщенные, независимо от длины цепи и количества двойных связей, не только не токсичны для клеток, но и защищают их от повреждающего действия насыщенных жирных кислот [80, 84]. Тем не менее, токсическими эффектами могут обладать некоторые их производные. Высокоаффинными лигандами GPR40 являются жирные кислоты в *транс*-конфигурации, оказывающие повреждающее действие на клетку, а также конъюгированная линолевая кислота [77, 85, 86]. Какая-то часть *транс*-изомеров может поступать в организм с пищей, однако, они могут формироваться эндогенно, например, при действии активных радикалов азота, образующихся при многих патологиях. На мышинных моделях ишемии показано, что *транс*-арахидоновая кислота вызывает дегенерацию микрососудов головного мозга, этот эффект опосредуется GPR40 и отсутствует у мышей нокаутных по данному рецептору [86].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К настоящему времени идентифицировано большое разнообразие липидных медиаторов, действующих по ауто/паракринным механизмам через активацию GPCR. К ним относятся открытые значительно раньше других многочисленные производные арахидоновой и некоторых других полиненасыщенных жирных кислот — простагландины, тромбоксаны, лейкотриены. Агонистами GPCR являются продукты метаболизма фосфолипидов — эндоканнабиноиды, несколько типов лизофосфолипидов, плазмалогены, моноацилглицерин, сфингозин-1-фосфат. Образование каждого медиатора зависит от последовательности или сети тонко регулируемых метаболических реакций, протекание которых, а, следовательно, и количество медиатора, зависит от активности или уровня экспрессии компонентов соответствующих ферментных систем.

Свободные жирные кислоты как сигнальные молекулы имеют принципиальные особенности, отличающие их от других липидных медиаторов. К ним относятся стабильно высокая концентрация неэстерифицированных жирных кислот в плазме крови и интерстициальной жидкости. Их поступление в плазму крови, где они немедленно связываются с альбуминами, обеспечивается относительно простыми

реакциями – липолизом триглицеридов, происходящими из жиров пищи или собственных жировых резервов. Однако за внешней простотой проступают вопросы, которые пока еще далеки от разрешения и свидетельствуют о том, что проблема более сложна, чем представляется на первый взгляд. В привычном представлении, процессу активации рецептора агонистом предшествует появление этого агониста или повышение его концентрации. Значения EC_{50} для агонистов рецепторов свободных жирных кислот находятся в микромолярном диапазоне концентраций. Как может регулироваться активность рецепторов и осуществляться передача сигнала при стабильно высокой концентрации агониста, которая в нормальных условиях может составлять несколько мкМ? Авторы одной из первых работ по “деорфанизации” GPR40 полагали, что рецептор активируется жирными кислотами, не связанными с альбуминами, так как в присутствии БСА в концентрации 0,01% и выше жирные кислоты полностью теряли способность активировать рецептор и стимулировать продукцию инсулина [5]. Однако концентрация в плазме крови жирных кислот, не связанных альбуминами, находится в наномолярном диапазоне [87] и слишком низка для возможности активировать рецептор, кроме того, впоследствии в экспериментах *in vitro* было показано, что рецептор активируется комплексом жирных кислот с альбумином. Нельзя ли предположить, что в паре “лиганд–рецептор” состояние самого рецептора и его доступность/чувствительность к агонисту может подвергаться регулированию?

Однако, несмотря на нерешенные вопросы, убедительные данные свидетельствуют о том, что свободные жирные кислоты представляют собой отдельный класс липидных медиаторов, действующих на GPCR, активирующих различные системы сигнальной трансдукции и имеющих широкий диапазон регуляторных эффектов. GPR40 и другие рецепторы свободных жирных кислот оказались задействованными в патогенезе наиболее распространенных нарушений здоровья современного человека – метаболического синдрома, ожирения, сахарного диабета 2-го типа, нейродегенеративных патологий, когнитивных и психических расстройств. Этот факт обеспечивает устойчивый интерес к исследованиям рецепторов жирных кислот как со стороны фундаментальной науки, так и фармакологической индустрии.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (тема № АААА-А18-118012290371-3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Krepс E.M.* Липиды клеточных мембран. Ленинград. Наука. 1981. [Krepс E.M. Lipids of cellular membranes. Leningrad. Nauka. 1981. (In Russ)].
2. *Wise A., Jupe S.C., Rees S.* The identification of ligands at orphan G-protein coupled receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 44: 43–66. 2004.
3. *Stoddart L.A., Smith N.J., Milligan G.* International Union of Pharmacology. LXXI. Free fatty acid receptors FFA1, -2, and -3: pharmacology and pathophysiological functions. *Pharmacol. Rev.* 60(4): 405–417. 2008.
4. *Sawzdargo M., George S.R., Nguyen T., Xu S., Kolakowski L.F., O’Dowd B.F.* A cluster of four novel human G protein-coupled receptor genes occurring in close proximity to CD22 gene on chromosome 19q13.1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 239(2): 543–547. 1997.
5. *Itoh Y., Kawamata Y., Harada M., Kobayashi M., Fujii R., Fukusumi S., Ogi K., Hosoya M., Tanaka Y., Uejima H., Tanaka H., Maruyama M., Satoh R., Okubo S., Kizawa H., Komatsu H., Matsumura F., Noguchi Y., Shinohara T., Hinuma S., Fujisawa Y., Fujino M.* Free fatty acids regulate insulin secretion from pancreatic beta cells through GPR40. *Nature.* 422(6928): 173–176. 2003.
6. *Briscoe C.P., Tadayyon M., Andrews J.L., Benson W.G., Chambers J.K., Eilert M.M., Ellis C., Elshourbagy N.A., Goetz A.S., Minnick D.T., Murdock P.R., Sauls H.R. Jr., Shabon U., Spinage L.D.,*

- Strum. J.C., Szekeres P.G., Tan K.B., Way J.M., Ignar D.M., Wilson S., Muir A.I.* The orphan G protein-coupled receptor GPR40 is activated by medium and long chain fatty acids. *J. Biol. Chem.* 278(13): 11303–11311. 2003.
7. *Kotarsky K., Nilsson N.E., Olde B., Owman C.* Progress in methodology Improved reporter gene assays used to identify ligands acting on orphan seven-transmembrane receptors. *Pharmacol. Toxicol.* 93: 249–258. 2003.
 8. *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.* 49(5): 962–968. 2006.
 9. *Salehi A., Flodgren E., Nilsson N.E., Jimenez-Felstrom J., Miyazaki J., Owman C., Olde B.* Free fatty acid receptor 1 (FFA(1)R/GPR40) and its involvement in fatty-acid-stimulated insulin secretion. *Cell Tissue Res.* 322(2): 207–215. 2005.
 10. *Shapiro H., Shachar S., Sekler I., Hershinkel M., Walker M.D.* Role of GPR40 in fatty acid action on the beta cell line INS-1E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 335: 97–104. 2005.
 11. *Kebede M., Alquier T., Latour M.G., Semache M., Tremblay C., Poitout V.* The fatty acid receptor GPR40 plays a role in insulin secretion *in vivo* after high-fat feeding. *Diabetes.* 57(9) : 2432–2437. 2008.
 12. *Nagasumi K., Esaki R., Iwachidow K., Yasuhara Y., Ogi K., Tanaka H., Nakata M., Yano T., Shimakawa K., Taketomi S., Takeuchi K., Odaka H., Kaisho Y.* Overexpression of GPR40 in pancreatic beta-cells augments glucose-stimulated insulin secretion and improves glucose tolerance in normal and diabetic mice. *Diabetes.* 58(5): 1067–1076. 2009.
 13. *Prentki M., Corkey B.E., Madiraju S.R.M.* Lipid-associated metabolic signalling networks in pancreatic beta cell function. *Diabetologia.* 63(1): 10–20. 2020.
 14. *Mancini A.D., Poitout V.* GPR40 agonists for the treatment of type 2 diabetes: life after 'TAKing' a hit. *Diabetes Obes. Metab.* 17(7): 622–629. 2015.
 15. *Latour M.G., Alquier T., Oseid E., Tremblay C., Jetton T.L., Luo J., Lin D.C., Poitout V.* GPR40 is necessary but not sufficient for fatty acid stimulation of insulin secretion *in vivo*. *Diabetes.* 56(4): 1087–1094. 2007.
 16. *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. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 289(4): E670–677. 2005.
 17. *Schnell S., Schaefer M., Schöfl C.* Free fatty acids increase cytosolic free calcium and stimulate insulin secretion from beta-cells through activation of GPR40. *Mol. Cell. Endocrinol.* 263(1–2): 173–80. 2007.
 18. *Sakuma K., Yabuki C., Maruyama M., Abiru A., Komatsu H., Negoro N., Tsujihata Y., Takeuchi K., Habata Y., Mori M.* Fasiglifam (TAK-875) has dual potentiating mechanisms via Gαq-GPR40/FFAR1 signaling branches on glucose-dependent insulin secretion. *Pharmacol. Res. Perspect.* 4(3): e00237. 2016.
 19. *Wang Z., Thurmond D.C.* Mechanisms of biphasic insulin-granule exocytosis – roles of the cytoskeleton, small GTPases and SNARE proteins. *J. Cell. Sci.* 122(Pt 7): 893–903. 2009.
 20. *Шпаков А.О.* Аденилатциклазная система в норме и при диабетической патологии. Санкт-Петербург. Изд-во Политехнического университета. 2016. [Shpakov A.O. Adenylyl cyclase system in norm and in diabetic pathology. St. Petersburg. Polytechn Univer. Publishing. 2016. (In Russ)].
 21. *Gwiazda K.S., Yang T.L., Lin Y., Johnson J.D.* Effects of palmitate on ER and cytosolic Ca²⁺ homeostasis in beta-cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 296(4) : E690–E701. 2009.
 22. *Ferdaoussi M., Bergeron V., Zarrouki B., Kolic J., Cantley J., Fielitz J., Olson E.N., Prentki M., Biden T., MacDonald P.E., Poitout V.* G protein-coupled receptor (GPR) 40-dependent potentiation of insulin secretion in mouse islets is mediated by protein kinase D1. *Diabetologia.* 55(10): 2682–2692. 2012.
 23. *Usui R., Yabe D., Fauzi M., Goto H., Botagarova A., Tokumoto. S, Tatsuoka H., Tahara Y., Kobayashi S., Manabe T., Baba Y., Kurosaki T., Herrera P.L., Ogura M., Nagashima K., Inagaki N.* GPR40 activation initiates store-operated Ca²⁺ entry and potentiates insulin secretion via the IP3R1/STIM1/Orai1 pathway in pancreatic β-cells. *Sci. Rep.* 9(1): 15562. 2019.
 24. *Muik M., Frischauf I., Derler I., Fahrner M., Bergsmann J., Eder. P, Schindl R., Hesch C., Polzinger B., Fritsch R., Kahr H., Madl J., Gruber H., Groschner K., Romanin C.* Dynamic coupling of the putative coiled-coil domain of ORAI1 with STIM1 mediates ORAI1 channel activation. *J. Biol. Chem.* 283(12): 8014–8022. 2008.
 25. *Tamarina N.A., Kuznetsov A., Philipson L.H.* Reversible translocation of EYFP-tagged STIM1 is coupled to calcium influx in insulin secreting beta-cells. *Cell. Calcium.* 44(6): 533–44. 2008.

26. Tian G., Tepikin A.V., Tengholm A., Gylfe E. cAMP induces stromal interaction molecule 1 (STIM1) puncta but neither Orail protein clustering nor store-operated Ca²⁺ entry (SOCE) in islet cells. *J. Biol. Chem.* 287(13): 9862–9872. 2012.
27. Tsujihata Y., Ito R., Suzuki M., Harada A., Negoro N., Yasuma T., Momose Y., Takeuchi K. TAK-875, an orally available G protein-coupled receptor 40/free fatty acid receptor 1 agonist, enhances glucose-dependent insulin secretion and improves both postprandial and fasting hyperglycemia in type 2 diabetic rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 339(1): 228–237. 2011.
28. Urano Y., Oda S., Tsuneyama K., Yokoi T. Comparative hepatic transcriptome analyses revealed possible pathogenic mechanisms of fasiglifam (TAK-875)-induced acute liver injury in mice. *Chem. Biol. Interact.* 296 : 185–197. 2018.
29. Шпаков А.О., Деркач К.В., Бахтюков А.А. Шпакова Е.А. Сопряженные с G-белками рецепторы и их аллостерические регуляторы. Санкт-Петербург. ПОЛИТЕХ-ПРЕСС. 2019. [Shpakov A.O., Derkach K.V., Bakhtyukov A.A. Shpakova E.A. G-protein-coupled receptors and their allosteric regulators. St. Petersburg. Polytech-Press. 2019 (In Russ)].
30. Sum C.S., Tikhonova I.G., Neumann S., Engel S., Raaka B.M., Costanzi S., Gershengorn M.C. Identification of residues important for agonist recognition and activation in GPR40. *J. Biol. Chem.* 282(40): 29248–29255. 2007.
31. Lin D.C., Guo Q., Luo J., Zhang J., Nguyen K., Chen M., Tran T., Dransfield P.J., Brown S.P., Houze J., Vimolratana M., Jiao X.Y., Wang Y., Birdsall N.J., Swaminath G. Identification and pharmacological characterization of multiple allosteric binding sites on the free fatty acid 1 receptor. *Mol. Pharmacol.* 82(5): 843–859. 2012.
32. Srivastava A., Yano J., Hirozane Y., Kefala G., Gruswitz F., Snell G., Lane W., Ivetac A., Aertgeerts K., Nguyen J., Jennings A., Okada K. High-resolution structure of the human GPR40 receptor bound to allosteric agonist TAK-875. *Nature.* 513: 124–127. 2014.
33. Krasavin M., Lukin A., Bagnyukova D., Zhurilo N., Golovanov A., Zozulya S., Zahanich I., Moore D., Tikhonova I.G. Polar aromatic periphery increases agonist potency of spirocyclic free fatty acid receptor (GPR40) agonists inspired by LY2881835. *Eur. J. Med. Chem.* 127 : 357–368. 2017.
34. Mancini A.D., Bertrand G., Vivot K., Carpentier E., Tremblay C., Ghislain J., Bouvier M., Poitout V. beta-Arrestin recruitment and biased agonism at free fatty acid receptor 1. *J. Biol. Chem.* 290: 21131–21140. 2015.
35. Hauge M., Vestmar M.A., Husted A.S., Ekberg J.P., Wright M.J., Di Salvo J., Weinglass A.B., Engelstoft M.S., Madsen A.N., Lückmann M., Miller M.W., Trujillo M.E., Frimurer T.M., Holst B., Howard A.D., Schwartz T.W. GPR40 (FFAR1) – Combined Gs and Gq signaling in vitro is associated with robust incretin secretagogue action ex vivo and in vivo. *Mol. Metab.* 4(1): 3–14. 2014.
36. Lane J.R., Sexton P.M., Christopoulos A. Bridging the gap: bitopic ligands of G-protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 34(1) : 59–66. 2013.
37. Yabuki C., Komatsu H., Tsujihata Y., Maeda R., Ito R., Matsuda-Nagasumi K., Sakuma K., Miyawaki K., Kikuchi N., Takeuchi K., Habata Y., Mori M. A novel antidiabetic drug, fasiglifam/TAK-875, acts as an ago-allosteric modulator of FFAR1. *PLoS One.* 8(10):e76280. 2013.
38. Edfalk S., Steneberg P., Edlund H. Gpr40 is expressed in enteroendocrine cells and mediates free fatty acid stimulation of incretin secretion. *Diabetes.* 57(9): 2280–2287. 2008.
39. Liou A.P., Lu X., Sei Y., Zhao X., Pechhold S., Carrero R.J., Raybould H.E., Wank S. *Gastroenterology.* 140(3): 903–912. 2011.
40. Ekberg J.H., Hauge M., Kristensen L.V., Madsen A.N., Engelstoft M.S., Husted A.S., Sichlau R., Egerod K.L., Timshel P., Kowalski T.J., Gribble F.M., Reiman F., Hansen H.S., Howard A.D., Holst B., Schwartz T.W. GPR119, a major enteroendocrine sensor of dietary triglyceride metabolites coacting in synergy with FFA1 (GPR40). *Endocrinology.* 157(12): 4561–4569. 2016.
41. Xiong Y., Swaminath G., Cao Q., Yang L., Guo Q., Salomonis H., Lu J., Houze J.B., Dransfield P.J., Wang Y., Liu J.J., Wong S., Schwandner R., Steger F., Baribault H., Liu L., Coberly S., Miao L., Zhang J., Lin D.C., Schwarz M. Activation of FFA1 mediates GLP-1 secretion in mice. Evidence for allosterism at FFA1. *Mol. Cell. Endocrinol.* 369(1–2) : 119–129. 2013.
42. Leifke E., Naik H., Wu J., Viswanathan P., Demanno D., Kipnes M., Vakilynejad M. A multiple-ascending-dose study to evaluate safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of a novel GPR40 agonist, TAK-875, in subjects with type 2 diabetes. *Clin. Pharmacol. Ther.* 92(1) : 29–39. 2012.
43. Luo J., Swaminath G., Brown S.P., Zhang J., Guo Q., Chen M., Nguyen K., Tran T., Miao L., Dransfield P.J., Vimolratana M., Houze J.B., Wong S., Toteva M., Shan B., Li F., Zhuang R., Lin D.C. A potent class of GPR40 full agonists engages the enteroinsular axis to promote glucose control in rodents. *PLoS One.* 7(10):e46300. 2012.
44. Ma D., Lu L., Boneva N.B., Warashina S., Kaplamadzhiev D.B., Mori Y., Nakaya M.A., Kikuchi M., Tonchev A.B., Okano H., Yamashima T. Expression of free fatty acid receptor GPR40 in the neurogenic niche of adult monkey hippocampus. *Hippocampus.* 18(3): 326–333. 2008.

45. Nakamoto K., Nishinaka T., Matsumoto K., Kasuya F., Mankura M., Koyama Y., Tokuyama S. Involvement of the long-chain fatty acid receptor GPR40 as a novel pain regulatory system. *Brain Res.* 1432: 74–83. 2012.
46. Zamarbide M., Etayo-Labiano I., Ricobaraza A., Martínez-Pinilla E., Aymerich M.S., Luis Lanciego J., Pérez-Mediavilla A., Franco R. GPR40 activation leads to CREB and ERK phosphorylation in primary cultures of neurons from the mouse CNS and in human neuroblastoma cells. *Hippocampus.* 24: 733–739. 2014.
47. Khan M.Z., Zhuang X., He L. GPR40 receptor activation leads to CREB phosphorylation and improves cognitive performance in an Alzheimer's disease mouse model. *Neurobiol. Learning and Memory.* 131: 46–55. 2016.
48. Sona C., Kumar A., Dogra S., Kumar B.A., Umrao D., Yadav P.N. Docosa-hexaenoic acid modulates brain-derived neurotrophic factor via GPR40 in the brain and alleviates diabetes-associated learning and memory deficits in mice. *Neurobiol. Dis.* 118: 94–107. 2018.
49. Obici S., Feng Z., Arduini A., Conti R., Rossetti L. Inhibition of hypothalamic carnitine palmitoyltransferase-1 decreases food intake and glucose production. *Nat. Med.* 9: 756–761. 2003.
50. Miller I., Ronnett G.V., Moran T.H., Aja S. Anorexigenic C75 alters c-Fos in mouse hypothalamic and hindbrain subnuclei. *Neuroreport.* 15: 925–929. 2004.
51. Obici S., Feng Z., Morgan K., Stein D., Karkanias G., Rossetti L. Central administration of oleic acid inhibits glucose production and food intake. *Diabetes.* 51(2): 271–275. 2002.
52. Wang R., Cruciani-Guglielmacci C., Migrenne S., Magnan C., Cotero. V.E., Routh V.H. Effects of oleic acid on distinct populations of neurons in the hypothalamic arcuate nucleus are dependent on extracellular glucose levels. *J. Neurophysiol.* 95(3): 1491–1498. 2006.
53. Nascimento L.F., Souza G.F., Morari J., Barbosa G.O., Solon C., Moura R.F., Victório S.C., Ignácio-Souza L.M., Razolli D.S., Carvalho H.F., Velloso L.A. n-3 Fatty Acids Induce Neurogenesis of Predominantly POMC-Expressing Cells in the Hypothalamus. *Diabetes.* 65(3): 673–686. 2016.
54. Dragano N.R.V., Solon C., Ramalho A.F., de Moura R.F., Razolli D.S., Christiansen E., Azevedo C., Ulven T., Velloso L.A. Polyunsaturated fatty acid receptors, GPR40 and GPR120, are expressed in the hypothalamus and control energy homeostasis and inflammation. *J. Neuroinflammation.* 14(1): 91. 2017.
55. Donath M.Y., Shoelson S.E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. *Nat. Rev. Immunol.* 11(2): 98–107. 2011.
56. Dutheil S., Ota K. T., Wohleb E.S., Rasmussen K., Duman R.S. High-fat diet induced anxiety and anhedonia: impact on brain homeostasis and inflammation. *Neuropsychopharmacology.* 41: 1874–1887. 2016.
57. Velloso L.A., Schwartz M.W. Altered hypothalamic function in diet-induced obesity. *Int. J. Obes. (Lond)* 35: 1455–1465. 2011.
58. Carraro R.S., Souza G.F., Solon C., Razolli D.S., Chausse B., Barbizan R., Victorio S.C., Velloso L.A. Hypothalamic mitochondrial abnormalities occur downstream of inflammation in diet-induced obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 460: 238–245. 2018.
59. Ozcan U., Yilmaz E., Ozcan L., Furuhashi M., Vaillancourt E., Smith R.O., Gorgun C.Z., Hottamisligil G.S. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes. *Science.* 313: 1137–1140. 2006.
60. Moraes J.C., Coope A., Morari J., Cintra D.E., Roman E.A., Pauli J.R., Romanatto T., Carvalheira J.B., Oliveira A.L., Saad M.J., Velloso L.A. High-fat diet induces apoptosis of hypothalamic neurons. *PLoS One* 4:e5045. 2009.
61. Wang Z., Liu D., Wan F., Liu S., Zhao S., Ling E. A., Hao A. Saturated fatty acids activate microglia via Toll-like receptor 4/NF-κB signalling. *Br. J. Nutr.* 107: 229–241. 2012.
62. Dorfman M.D., Thaler J.P. Hypothalamic inflammation and gliosis in obesity. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 22: 325–330. 2015.
63. Cintra D.E., Ropelle E.R., Moraes J.C., Pauli J.R., Morari J., Souza C.T., Grimaldi R., Stahl M., Carvalheira J.B., Saad M.J., Velloso L.A. Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. *PLoS One.* 7(1): e30571. 2012.
64. Panza F., Frisardi V., Seripa D., Imbimbo B.P., Sancarlo D., D'Onofrio G., Addante F., Paris F., Pilotto A., Solfrizzi V. Metabolic syndrome, mild cognitive impairment, and dementia. *Curr. Alzheimer Res.* 8(5): 492–509. 2011.
65. Pal K., Mukadam N., Petersen I., Cooper C. Mild cognitive impairment and progression to dementia in people with diabetes, prediabetes and metabolic syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.* 53(11): 1149–1160. 2018.
66. Passaro A., Dalla Nora E., Morieri M.L., Soavi C., Sanz. J.M., Zurlo A., Fellin R., Zuliani G. Brain-derived neurotrophic factor plasma levels: relationship with dementia and diabetes in the elderly population. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 70(3): 294–302. 2015.
67. Schwartz E., Mobbs C.V. Hypothalamic BDNF and obesity: found in translation. *Nat. Med.* 18(4): 496–497. 2012.

68. *Molteni R., Barnard R.J., Ying Z., Roberts C.K., Gómez-Pinilla F.* A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience*. 112(4): 803–814. 2002.
69. *Fox E.A., Biddinger J.E., Jones K.R., McAdams J., Worman A.* Mechanism of hyperphagia contributing to obesity in brain-derived neurotrophic factor knockout mice. *Neuroscience*. 229: 176–199. 2013.
70. *Labrousse V.F., Nadjar A., Joffre C., Costes L., Aubert A., Grégoire S, Bretillon L, Layé S.* Short-term long chain omega3 diet protects from neuroinflammatory processes and memory impairment in aged mice. *PLoS One*. 7(5):e36861. 2012.
71. *Janssen C.I., Kiliaan A.J.* Long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) from genesis to senescence: the influence of LCPUFA on neural development, aging, and neurodegeneration. *Prog. Lipid Res*. 53: 1–17. 2014.
72. *Healy-Stoffel M., Levant B.* n-3 (Omega-3) Fatty Acids: Effects on Brain Dopamine Systems and Potential Role in the Etiology and Treatment of Neuropsychiatric Disorders. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*.17(3): 216–232. 2018.
73. *Aizawa F, Ogaki Y., Kyoya N., Nishinaka T., Nakamoto K., Kurihara T., Hirasawa A., Miyata A., Tokuyama S.* The Deletion of GPR40/FFAR1 Signaling Damages Maternal Care and Emotional Function in Female Mice. *Biol. Pharm. Bull.* 40(8) : 1255-1259. 2017.
74. *Ma D., Zhang M., Larsen Cp., Xu F., Hua W., Yamashita T.* DHA promotes the neuronal differentiation of rat neural stem cells transfected with GPR40 gene. *Brain Res*. 1330: 1-8. 2010.
75. *Nakamoto K, Aizawa F, Miyagi K., Yamashita T., Mankura M., Koyama Y., Kasuya F., Hirasawa A., Kurihara T., Miyata A., Tokuyama S.* Dysfunctional GPR40/FFAR1 signaling exacerbates pain behavior in mice. *PLoS One*. 12(7): e0180610. 2017.
76. *Zhou Y.P., Grill V.E.* Long-term exposure of rat pancreatic islets to fatty acids inhibits glucose-induced insulin secretion and biosynthesis through a glucose fatty acid cycle. *J. Clin. Invest*. 93(2): 870–876. 1994.
77. *Yamashita T.* Dual effects of the non-esterified fatty acid receptor 'GPR40' for human health. *Prog. Lipid Res*. 58: 40–50. 2015.
78. *Sako Y., Grill V.E.* A 48-hour lipid infusion in the rat time-dependently inhibits glucose-induced insulin secretion and B cell oxidation through a process likely coupled to fatty acid oxidation. *Endocrinology*. 127(4): 1580–1589. 1990.
79. *Carpentier A., Mittelman S.D., Lamarche B., Bergman R.N., Giacca A., Lewis G.F.* Acute enhancement of insulin secretion by FFA in humans is lost with prolonged FFA elevation. *Am. J. Physiol*. 276(6): E1055–1066. 1999.
80. *Gehrmann W, Elsner M., Lenzen S.* Role of metabolically generated reactive oxygen species for lipotoxicity in pancreatic β -cells. *Diabetes Obes. Metab*. 12 Suppl 2: 149–158. 2010.
81. *Wu J., Sun P., Zhang X., Liu H., Jiang H., Zhu W., Wang H.* Inhibition of GPR40 protects MIN6 β cells from palmitate-induced ER stress and apoptosis. *J. Cell. Biochem*. 113(4): 1152–1158. 2012.
82. *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 Metab*. 1(4): 245–258. 2005.
83. *Tan C.P., Feng Y., Zhou Y.P., Eiermann G.J., Petrov A., Zhou C., Lin S., Salituro G., Meinke P., Mosley R., Akiyama T.E., Einstein M., Kumar S., Berger J.P., Mills S.G., Thornberry N.A., Yang L., Howard A.D.* Selective small-molecule agonists of G protein-coupled receptor 40 promote glucose-dependent insulin secretion and reduce blood glucose in mice. *Diabetes*. 57(8): 2211–2219. 2008.
84. *Almaguel F.G., Liu J.W., Pacheco F.J., De Leon D., Casiano C.A., De Leon M.* Lipotoxicity-mediated cell dysfunction and death involve lysosomal membrane permeabilization and cathepsin L activity. *Brain Res*. 1318: 133–143. 2010.
85. *Schmidt J., Liebscher K., Merten N., Grundmann M., Mielenz M., Sauerwein H., Christiansen E., Due-Hansen M.E., Ulven T., Ullrich S., Gomeza J., Drewke C., Kostenis E.* Conjugated linoleic acids mediate insulin release through islet G protein-coupled receptor FFA1/GPR40. *J. Biol. Chem*. 286(14): 11890–11894. 2011.
86. *Honoré J.C., Kooli A., Hamel D., Alquier T., Rivera J.C., Quiniou C., Hou X., Kermorvant-Duchemin E., Hardy P., Poitout V., Chemtob S.* Fatty acid receptor Gpr40 mediates neuromicrovascular degeneration induced by transarachidonic acids in rodents. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 33(5): 954–961. 2013.
87. *Richieri G.V., Kleinfeld A.M.* Unbound free fatty acid levels in human serum. *J. Lipid Res*. 36(2): 229–240. 1995.

Free Fatty Acid Receptor GPR40/FFA1 and Its Functional Role**R. G. Parnova****Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences,
St.-Petersburg, Russia***e-mail: rimma_parnova@mail.ru*

The endogenous ligands of GPR40/FFA1 receptor, a member of G protein-coupled receptor family, are saturated and unsaturated free fatty acids of medium (C6–C12) and long (C > 12) chain. The highest level of GPR40/FFA1 expression was found in pancreatic β -cells and in neurons in different brain parts. Since its “deorphanization” in 2003, a large amount of experimental data has been accumulated regarding the functional role of GPR40/FFA1 in the central and peripheral regulation of the metabolic status of the organism. The present review provides a comprehensive overview of the mechanisms of GPR40 activation by endogenous and synthetic ligands, and of the intracellular signaling pathways coupled to GPR40/FFA1. The review specifically focuses on GPR40/FFA1-mediated activation of glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic β -cells, production of incretins by enteroendocrine cells, and also on stimulation of neurogenesis and neurodifferentiation in CNS. New prospects for the treatment of metabolic disorders, such as obesity and type 2 diabetes, with synthetic GPR40/FFA1 agonists are considered.

Keywords: free fatty acids, receptor GPR40/FFA1, insulin secretion, incretins, neurons, neurogenesis, allosteric regulation

ЦИТИРОВАТЬ:

Парнова Р.Г. GPR40/FFA1-рецепторы свободных жирных кислот и их функциональная роль. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 106(5): 584–600.

DOI: 10.31857/S0869813920050088

TO CITE THIS ARTICLE:

Parnova R.G. Free Fatty Acid Receptor GPR40/FFA1 and Its Functional Role. Russian Journal of Physiology. 106(5): 584–600.

DOI: 10.31857/S0869813920050088