

УДК 577.2:616.577.2:579

## МУТАЦИИ В КЛЮЧЕВЫХ ГЕНАХ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ ОЖИРЕНИЯ И САХАРНОГО ДИАБЕТА

© 2013 г. Ю. А. Панков\*

Эндокринологический научный центр Министерства здравоохранения  
Российской Федерации, Москва, 115478

Поступила в редакцию 03.05.2012 г.

Принята к печати 28.06.2012 г.

Ожирение и сахарный диабет развиваются и при низких, и при высоких концентрациях лептина и инсулина в сыворотке (U-образная зависимость). Мутации в генах *LEP* и *INS*, кодирующих эти гормоны, приводят к снижению уровня гормонов, а мутации в генах их рецепторов — *LEPR* и *INSR* — к повышению. Гомозиготные мутации в *LEP* ассоциированы с ранним началом тяжелого ожирения и нарушением многих физиологических функций. Такие же патологические проявления характерны и для гомозиготных мутаций в гене *LEPR*. Доминантные миссенс-мутации в гене *INS* приводят к синтезу химерных молекул проинсулина, способных нарушать свертывание и процессинг молекул активного инсулина, и в гетерозиготном состоянии ассоциированы с развитием перманентного неонатального диабета (PND). Рecessивные мутации в гене *INS* не изменяют структуру проинсулина и только в гомозиготном состоянии приводят к развитию PND. Мутации в *INSR* ассоциированы с резистентностью к инсулину, липодистрофией и другими нарушениями, что свидетельствует о важной роли инсулина не только в поддержании уровня сахара в крови, но и в стимуляции накопления жира.

**Ключевые слова:** лептин, инсулин, рецептор, обмен веществ, гипогонадизм.

MAJOR GENE MUTATIONS ASSOCIATED WITH OBESITY AND DIABETES MELITUS, by Y. A. Pankov\* (Endocrinology Research Center, Moscow, 115478 Russia; \*e-mail: pankov.yuriy@endocrincentr.ru). Obesity and diabetes mellitus are associated with low or elevated serum leptin and insulin levels (U-like relation). Mutations in *LEP* and *INS* are linked to leptin and insulin decrease while mutations in *LEPR* and *INSR* to their increase. Homozygous *LEP* mutations are associated with the early onset of severe obesity and diverse impairment of physiological functions. Recessive *LEPR* mutations are associated with similar pathology in homozygous state. Missense mutations of *INS* are dominant. They induce synthesis of chimeric pro-insulin that may interfere folding and processing of active insulin molecules. In the heterozygous state they cause insulin deficiency and PND. Recessive *INS* mutations do not induce synthesis of anomalous pro-insulin, and they are associated with PND only in homozygous state. Mutations of *INSR* induce insulin resistance, lipodystrophy, other pathology, and suggest an important role of insulin in glucose level regulation and in stimulation of fat accumulation as well.

**Keywords:** leptin, insulin, receptor, metabolism, hypogonadism.

DOI: 10.7868/S0026898413010138

Два гормона — лептин и инсулин — играют важную роль в регуляции энергетического баланса. На первый взгляд, эти гормоны имеют мало общего. Лептин контролирует жировой обмен, и нарушение его функции вызывает ожирение, а инсулин регулирует углеводный обмен и связан с развитием сахарного диабета (СД). Лептин секретируется в кровь жировой тканью, которая составляет от 20 до 50% общей массы тела и является

самым крупным эндокринным органом, тогда как инсулин секретируется  $\beta$ -клетками поджелудочной железы — самым мелким эндокринным органом. Однако функции лептина и инсулина тесно связаны *in vivo*.

Между выраженностью эндокринной патологии и уровнем циркулирующих в крови гормонов часто прослеживается U-образная зависимость. На рис. 1 схематически представлена корреляция

Принятые сокращения: PND — перманентный неонатальный диабет; СД — сахарный диабет; ИМТ — индекс массы тела.  
\* Эл. почта: pankov.yuriy@endocrincentr.ru



Рис. 1. Корреляция эндокринной патологии с уровнями лептина и инсулина в крови.

СД и ожирения с концентрацией в крови инсулина или лептина. Уровни гормонов у здоровых людей изменяются в широких пределах, но в этих границах они эффективно регулируют обмен веществ и поддерживают содержание сахара в крови и жировые запасы на стабильно низком, нормальном уровне. Когда эффективность действия лептина или инсулина падает, а повышение их концентрации не компенсирует нарушенные функции, развивается ожирение или СД2. При чрезмерном снижении концентрации лептина или инсулина также возникают ожирение или СД1. Сходная закономерность характерна и для других гормонов.

У лептина отклонения от U-образной зависимости выявляются в левой части кривой, представленной на рис. 1, а у инсулина – в правой. Уникальность лептина заключается в том, что он секретируется в кровь жировой тканью и сдерживает накопление жировых запасов (саморегуляция по типу обратной связи). Концентрация лептина в крови падает не только при задержке его секреции адипоцитами, что приводит к ожирению; но также при резком уменьшении жировых запасов – липодистрофии. В этом случае ожирение не развивается, несмотря на значительное снижение уровня лептина, но появляются другие нарушения, ассоциированные с дефицитом гормона. Изменение уровня инсулина при СД2 также отклоняется от U-образной кривой. Количество  $\beta$ -клеток в поджелудочной железе ограничено, и при тяжелой инсулинорезистентности они не способны бесконечно увеличивать секрецию гормона, поэтому уровень инсулина падает, и обостряется СД2.

Снижение секреции лептина и инсулина или нарушение эффективности их действия обуслов-

лены различными причинами, но в представленном обзоре обсуждаются только мутации в генах *LEP* и *INS* и в генах рецепторов гормонов (*LEPR*, *INSR*), которые блокируют экспрессию генов, либо приводят к синтезу неактивных или мало активных белков.

#### МУТАЦИИ В ГЕНЕ ЛЕПТИНА (*LEP*)

В настоящее время в гене *LEP* человека найдены мутации, в гомозиготном состоянии ассоциированные с ожирением. Первую мутацию, **g.15348delG**, идентифицировали в 1997 г. у детей в семьях выходцев из Пакистана. Эта мутация вызывает сдвиг рамки считывания G133fsX15, что приводит к отсутствию в молекуле лептина C-концевого участка, содержащего Cys [1] (рис. 2). Мутантный белок теряет способность формировать внутримолекулярную дисульфидную связь, необходимую для поддержания правильной третичной структуры гормона и его секреции. Укороченный пептид задерживается в клетках, где подвергается деградации. У носителей гомозиготной мутации лептин отсутствует, у них развивается тяжелое ожирение с нарушением многих физиологических функций [1]. У носителей мутации G133fsX15 в гене *LEP* существенно снижена жизнеспособность, поэтому в гомозиготном состоянии эта мутация найдена только у детей.

Регулярные инъекции рекомбинантного лептина быстро нормализуют нарушенные функции у детей с мутацией g.15348delG [2]. Однако проведение подобной терапии сталкивается с серьезной проблемой. Поскольку мутация, которая приводит к образованию преждевременного стоп-кодона, “ликвидирует” лептин, то в период эмбрионального развития, по всей вероятности, не формируется иммунотолерантность к лептину.

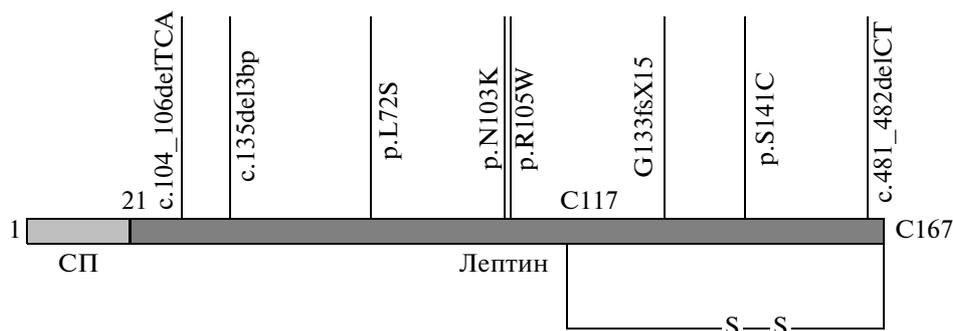


Рис. 2. Расположение мутаций, изменяющих первичную структуру лептина человека.

В дальнейшем к вводимому экзогенному гормону быстро вырабатываются антитела, поэтому для поддержания нормального энергетического баланса дозу лептина приходится увеличивать в несколько раз в течение 1–4 лет [2]. Сообщения о результатах более длительного применения лептина пока отсутствуют.

Мутация G133fsX15 в *LEP* довольно распространена в Пакистане среди лиц с ранним началом тяжелого ожирения. Ее обозначают и как c.398delG [3], и как G133\_VfsX14 [4], но в обоих случаях это делеция остатка G в кодоне GGG (Gly133). У выходцев из других стран подобная мутация не описана. Вторая мутация – замена c.313C > T (p.R105W) – найдена у взрослых выходцев из Турции [5]. При этой мутации кодон CGG(Arg) превращается в TGG(Trp). Ранее замену c.313C > T в гене *Lep* обнаружили у мышей *ob/ob*, у которых эта мутация приводит к превращению CGA(Arg) в терминирующий кодон TGA (p.R105X) [6]. В результате синтезируется укороченный белок, состоящий из 104 аминокислотных остатков (вместо 146 в активном лептине), который, вероятно, не обладает биологической активностью. У мышей с этой мутацией развивается ожирение, бесплодие, поликистоз яичников и СД2, нарушается иммунитет. У человека, в отличие от грызунов, в случае замены c.313C > T синтезируется лептин нормальной длины, но он задерживается в клетке и не секретируется (показано при помощи трансфекции клеток COS-1 мутантной кДНК) [5]. Можно допустить, что замена p.R105W приводит к нарушению фолдинга и процессинга мутантного лептина в эндоплазматическом ретикулуме и к развитию дефицита циркулирующего в крови гормона. Патологические проявления у больных с этой мутацией менее выражены, чем у мышей *ob/ob* с заменой c.313C > T в гене *Lep* или у детей с мутацией g.1534delG. Многие носители гомозиготной мутации p.R105W умирают в детстве, однако некоторые доживают до зрелого возраста. Вместе с ожирением у них проявляются симптомы инсулинорезистентности (существенное повышение концен-

трации инсулина натощак и после приема пищи) и задержка полового развития [7].

Применение рекомбинантного лептина позволило в течение многих лет поддерживать сниженную массу тела у взрослых больных и восстановить нарушенные функции [8, 9]. Данные о появлении у таких больных антител к лептину пока отсутствуют, а ежедневные инъекции гормона на протяжении более 10 лет поддерживают у них индекс массы тела (ИМТ) на верхней границе нормы, уменьшают симптомы гипогонадизма и снижают резистентность к инсулину [9, 10]. Возможно, лептин с мутацией p.R105W, хотя и задерживается в адипоцитах, но в период роста и развития он, вероятно, попадает в кровь и представляется иммунной системе в качестве собственного антигена. По аналогии с результатами, полученными на мышах *ob/ob*, предполагается, что мутация c.313C > T в гене *LEP* человека также приводит к синтезу укороченного белка, однако данные электрофоретического анализа мутантного лептина [5] не подтверждают такое заключение [11]<sup>1</sup>.

Третья мутация, c.422C > G (p.S141C), в гене *LEP* выявлена у жителей горного поселка Караул в Туркменистане [12] (рис. 2). Замена C422 на более крупный остаток G предположительно может существенно изменять конформационные свойства мутантной ДНК. Электрофоретическая подвижность одноцепочечной ДНК (SSCP-анализ) с заменой только одного нуклеотида была в 3 раза меньше, чем у нормальной ДНК (рис. 3) [12]. Мутацию p.S141C обнаружили в семьях, где примерно четверть детей страдают ожирением, что характерно для аутосомно-рецессивного типа наследования. Можно полагать, что появление внутри дисульфидной петли между остатками Cys117 и Cys167 третьего неспаренного Cys141 (рис. 2) нарушает фолдинг лептина, задерживает его в клетках и затрудняет секрецию.

<sup>1</sup> В работах [9, 10] мутация Arg105Trp ошибочно названа Cys105Thr, а в работе [11] – и Arg105Trp, и C105T.

Четвертая мутация с.309С > А (р. N103К), найденная в гомозиготном состоянии у двух детей в египетской семье, где родителями были двоюродные брат и сестра – носители гетерозиготной мутации. Дети сразу после рождения отличались повышенным аппетитом и ранним началом тяжелого ожирения (ИМТ 51 и 45 кг/м<sup>2</sup> при норме ≤ 25 кг/м<sup>2</sup>) [13]. Низкий уровень циркулирующего лептина вызывает ожирение, при котором содержание инсулина в 2 раза превышает верхнюю границу нормы при нормальной концентрации сахара. Такие показатели указывают на развитие резистентности к инсулину, которая в раннем возрасте компенсируется повышением секреции гормона. Распределение лептина K103 между клетками и инкубационной средой *in vitro* не изучали. Однако по аналогии с заменой р. R105W [5] можно полагать, что лептин с мутацией р. N103К также задерживается в клетках.

Путем экспрессии мутантной кДНК в клетках *Escherichia coli* получен зрелый лептин (без сигнального пептида) с заменой N82K [14]. Методом кругового дихроизма выявлено сходство фолдинга и идентичность вторичной структуры мутантного белка и лептина дикого типа. Однако связывание лептина K82 с LEPR и его действие *in vitro* снижаются на порядки, что свидетельствует о значительном падении биологической активности [14] вместе с почти полным отсутствием мутантного гормона в крови [13].

Недавно в Пакистане у детей с ранним началом тяжелого ожирения нашли новые мутации в гене *LEP* – с.481\_482delCT, с.104\_106delTCA [3] и 135del 3bp(delIle45) [4], ассоциированные с резким повышением аппетита сразу после рождения и увеличенным накоплением жира.

Все эти мутации обнаружены и изучены у выходцев из Пакистана, Турции, Туркменистана и Египта, где часто встречаются близкородственные браки. Среди европейцев первая замена с.217Т > С (р. L72S) в *LEP* обнаружена в гомозиготном состоянии у девочки 14 лет в семье, где оба родителя были гетерозиготными носителями (в родословной без близкородственных браков) этой мутации. У девочки наблюдается умеренное ожирение (ИМТ 31.5 кг/м<sup>2</sup>), что, вероятно, обусловлено скудным пищевым рационом в семье [15]. Как и в случае р. R105W, лептин с мутацией р. L72S, синтезируемый в трансфицированных клетках HEK293, задерживается в них, что замедляет его поступление в среду [15]. У носителей мутации р. L72S и мутации р. R105W фенотип и нарушения физиологических функций имеют много общего [5], что проявляется гипогонадизмом со сниженным уровнем гонадотропинов – лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, повышением концентрации инсулина как до, так и после стимуляции (тест на толерант-

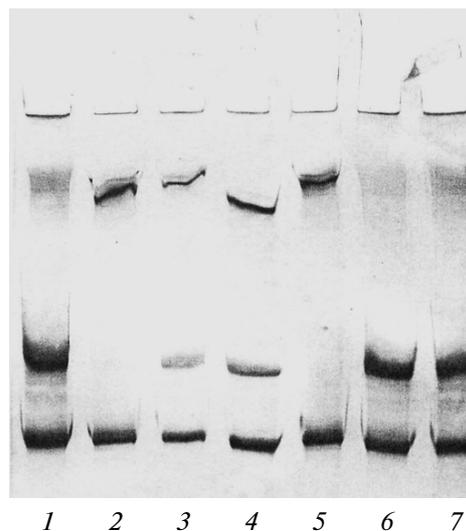


Рис. 3. SSCP-анализ ДНК дикого типа и ДНК с мутацией с.422С > G в *LEP* (1, 6, 7 – дикый тип; 2, 5 – гомозиготная мутация; 3, 4 – гетерозиготная мутация) [12].

ность к глюкозе). Нормальный уровень сахара крови поддерживается, вероятно, в результате повышенной секреции инсулина β-клетками.

### МУТАЦИИ В ГЕНЕ РЕЦЕПТОРА ЛЕПТИНА (*LEPR*)

В гене *LEPR* идентифицированы мутации, которые, как и мутации в *LEP*, ассоциированы с ожирением, инсулинорезистентностью, задержкой полового развития, снижением секреции лютеинизирующего, фолликулостимулирующего и других гормонов гипофиза, нарушением иммунитета. Первой мутацией, обнаруженной в гене *LEPR* человека, была замена G > A в донорном сайте сплайсинга экзона 16. Эта мутация приводит к пропуску экзона и синтезу укороченного белка, который не встраивается в липидную мембрану и не проводит гормональный сигнал [16]. Вес носительницы этой замены в донорном сайте сплайсинга в *LEPR* постепенно достиг 220 кг и снизился до 170 кг после операции на желудочно-кишечном тракте, а гипогонадизм в раннем возрасте не помешал наступлению половой зрелости и рождению дочери с нормальным весом [17]. Следовательно, отсутствие активного рецептора лептина не обязательно приводит к бесплодию, хотя и задерживает наступление половой зрелости. Длительное время замена G > A оставалась единственной известной мутацией, подавляющей синтез активного рецептора.

Прогресс в изучении других мутаций в гене *LEPR* связан с работами научных групп О'Рейли и Фаруки (S. O'Rahilly и I.S. Farooqi) [18, 19]. В большой выборке индивидов с ранним началом

тяжелого ожирения они выявили серию мутаций в участке гена *LEPR*, кодирующем внеклеточный домен [18], в том числе, делеции 1, 4 и 11 п.н. в 5'-концевой области и нонсенс-мутацию p.W31X вблизи N-конца, которые блокируют экспрессию гена *LEPR* и синтез рецептора лептина. Делеция 66 п.н. после кодона 514 не вызывает сдвига рамки считывания, но приводит к отсутствию большого участка полипептидной цепи и, вероятно, инактивирует белок. По-разному на функцию рецептора влияют миссенс-мутации A409E, W664R, H684P и R612H, а составная гетерозиготная мутация – делеция 1 п.н. в кодоне 15/миссенс-мутация p.R612H может оказывать комбинированное действие.

На клетках HEK293, трансфицированных различными векторами, показано, что замена A409E не влияет на встраивание рецептора в мембрану и его связывание с лигандом, но полностью подавляет действие лептина. Миссенс-мутации R612H, W664R и H684P в различной степени нарушают фолдинг и встраивание *LEPR* в клеточную мембрану, а рецепторы с мутациями W664R и H684P теряют также способность проводить гормональный сигнал, хотя сохраняют высокое сродство к лептину [19].

Помимо перечисленных мутаций, у двух детей (двоюродные брат и сестра 2 лет) выявлена гомозиготная замена p.P316T. Родители этих детей (обе пары) являются гетерозиготными носителями этой мутации, а бабушки и дедушки в каждой семье, где дети страдают ожирением, также были близкими родственниками [20]. У детей наблюдалось раннее начало тяжелого ожирения с повторяющимися респираторными инфекциями и повышением уровня лептина в крови. Отсутствие Pго316, по всей вероятности, повышает конформационную лабильность белка, а Thr предрасполагает к формированию альтернативных водородных связей и может препятствовать фолдингу и встраиванию рецептора в мембрану. Гомозиготная мутация p.P316T существенно снижает функциональную активность рецептора. Дети с такой мутацией практически теряют чувство сытости, они едят и днем и ночью. Недавно у девочки 6 лет выявили двойную миссенс-мутацию P316T:W646C в гене *LEPR*. В гомозиготном состоянии эта мутация инактивирует рецептор, приводит к резкому повышению аппетита сразу после рождения и тяжелому ожирению [21]. Новая замена W646C способна усилить отрицательное влияние известной мутации P316T, нарушать фолдинг мутантного рецептора, в положении 646 которого появляется дополнительный остаток Cys.

В больших выборках мутации в гене *LEPR* обнаруживают у 3% лиц с тяжелым ожирением. Эти мутации приводят к задержке полового развития, снижению уровня лютеинизирующего и фолли-

кулостимулирующего гормонов, вызывают резистентность к инсулину [18]. Менструации у девушек возникают позже и после 20 лет происходят нерегулярно, хотя содержание гонадотропинов возвращается к норме. В большинстве случаев уровень глюкозы сохраняется на обычном уровне при повышенной концентрации инсулина, а у взрослых женщин развивается СД2. Дети с мутациями в гене *LEPR*, как и дети с нарушением экспрессии *LEP*, часто страдают респираторными заболеваниями и умирают в раннем возрасте вследствие снижения иммунитета. Однако у носителей мутаций в гене *LEPR* наблюдается менее тяжелая патология, чем при полном отсутствии лептина; они меньше едят и имеют более низкий ИМТ. Некоторые мутации найдены в гомозиготном состоянии у взрослых: делеция 11 п.н. в кодоне 70 *LEPR* выявлена у подростка 15 лет и девушки 18 лет, а нонсенс-мутация W31X – у нескольких взрослых с тяжелым ожирением, в том числе у женщины 55 лет [18]. Ничего подобного не наблюдается у носителей гомозиготных мутаций в гене *LEP*, за исключением замены R105W в одной семье [5], тогда, как уже упомянуто, молодая женщина, у которой отсутствует активный *LEPR*, несмотря на тяжелое ожирение и задержку полового развития, родила дочь [17]. На основании того, что мутации в *LEPR* вызывают более легкую патологию, чем гомозиготные мутации в *LEP*, предполагается, что некоторые эффекты лептина проявляются независимо от связывания с рецептором [18].

### ОСОБЕННОСТИ ОЖИРЕНИЯ, АССОЦИИРОВАННОГО С МУТАЦИЯМИ В ГЕНАХ *LEP* И *LEPR*

Регуляция потребления пищи лептином предполагает последовательную активацию экспрессии генов *LEP* → *LEPR* → *POMC* → *MC4R*, среди которых *LEP* экспрессируется только в адипоцитах жировой ткани, *LEPR* – во многих органах и тканях – мишенях действия лептина, *POMC* (проопиомеланокортин) – в основном в гипоталамусе и гипофизе, а *MC4R* (рецептор меланокортина 4) – в гипоталамусе и других отделах головного мозга. В результате процессинга из *POMC* высвобождаются меланокортины, которые связываются с рецептором *MC4R* в нервной системе и снижают чувство голода, уменьшают потребление пищи и препятствуют развитию ожирения [22, 23]. Мутации в *LEP* ассоциированы с наиболее тяжелыми формами ожирения со снижением фертильности и другими нарушениями. Мутации в *LEPR* индуцируют фенотипически сходную, но менее выраженную патологию. Нарушение экспрессии *POMC* приводит к ожирению с блокадой системы гипофиз–кора надпочечников и существенному снижению жизнеспособности. При нарушении

экспрессии *MC4R* подавляется действие меланокортинов в гипоталамусе, повышается потребление пищи и развивается ожирение без заметного влияния на другие физиологические функции. Мутации в *MC4R* ассоциированы с обычным ожирением с сохраненной репродуктивной функцией, они легко передаются по наследству и поэтому являются одной из наиболее частых причин распространения ожирения [22].

Тяжелые нарушения обмена веществ, ассоциированные с мутациями в *LEP* или *LEPR*, невозможно объяснить только увеличенным потреблением пищи, которое могло бы приводить к увеличению жировых запасов и повышению массы тела до 220 кг, а ИМТ — до 81 кг/см<sup>2</sup> [17]. Мутации в *LEP* или *LEPR* приводят к развитию более глубокой патологии, а целенаправленное снижение потребления пищи приводит лишь к ухудшению состояния здоровья без существенного улучшения жирового обмена. Мутации в *MC4R*, напротив, только снижают эффективность действия лептина в нейронах гипоталамуса и увеличивают потребление пищи, однако не индуцируют такое ожирение, как мутации в *LEP* и *LEPR* [18]. Вместе с тем, утверждается, что именно снижение действия лептина на нейроны гипоталамуса индуцирует тяжелейшее ожирение, вызываемое нарушением функций лептина или его рецептора, и сочетается с различными патологическими проявлениями [23].

В результате альтернативного сплайсинга мРНК *LEPR* образуются рецепторы нескольких типов, которые имеют одинаковую структуру внеклеточного лептин-связывающего и трансмембранного доменов, но отличаются длиной и аминокислотной последовательностью внутриклеточных участков. Рецептор с наиболее длинным цитоплазматическим участком активно синтезируется в центральной нервной системе, его роль в регуляции жирового обмена изучена довольно хорошо. О роли других форм рецепторов, синтезируемых с различной эффективностью в периферических органах, известно пока недостаточно, однако они могут выполнять не менее важную функцию в регуляции обмена веществ, чем рецептор лептина в нервной системе.

Сейчас принято считать, что основная функция жировой ткани заключается в накоплении энергии в форме триглицеридов и последующем ее использовании для удовлетворения изменяющихся энергетических потребностей. Отложение триглицеридов в жировых депо должно стимулироваться некими липогенными факторами, одним из которых может быть инсулин. В связи с этим обоснованной представляется гипотеза, согласно которой лептин снижает накопление жировых запасов, не только воздействуя на нервную систему и уменьшая потребление пищи, но также подавляя действие липогенных факторов в

адипоцитах и стимуляцию отложения триглицеридов в жировых депо. Если такую гипотезу принять, то удовлетворительное объяснение получают многие результаты. При исчезновении лептина или его рецептора активируются липогенные факторы, которые стимулируют накопление триглицеридов независимо от объема потребляемой пищи. В этих условиях большая часть питательных веществ превращается в липиды, которые накапливаются в адипоцитах и вызывают дефицит метаболитов, необходимых для удовлетворения внутренних энергетических потребностей. В результате индуцируются факторы, увеличивающие потребление пищи: орексины, нейропептид Y, грелин и др. Однако большая часть пищи снова превращается в триглицериды и формирует порочный круг, приводящий к “безмерному” ожирению, характерному для носителей мутаций в генах *LEP* и *LEPR*. Предложенная гипотеза согласуется с результатами изучения различных форм ожирения, ассоциированных у человека с мутациями в генах *LEP*, *LEPR* или *MC4R* [18].

Видно, что к настоящему времени изучено не очень много мутаций в генах *LEP* и *LEPR*. Анализ каждой мутации в отдельности позволит оценить ее роль в индукции ожирения и других нарушений. Редкая встречаемость мутаций в этих генах может быть обусловлена снижением фертильности их носителей и повышением восприимчивости к инфекциям, что уменьшает передачу мутаций последующим поколениям и их закрепление в популяции. Сходные причины препятствуют, по-видимому, накоплению мутаций в генах инсулина (*INS*) и его рецептора (*INSR*), которые, как *LEP* и *LEPR*, выполняют важные функции в обеспечении нормальной жизнедеятельности [23]. Однако к настоящему времени в генах *INS* и *INSR* проанализировано значительно больше мутаций, чем в *LEP* и *LEPR*, возможно, в силу более длительного их изучения.

Мутации в гене инсулина долгое время изучали лишь эпизодически. Одна из первых мутаций, с.G1298T, обнаружена в гетерозиготном состоянии у пяти родственников, больных СД2 [24]. В результате замены GTG → TTG в третьем положении цепи А вместо остатка Val появляется Leu, что снижает связывание инсулина с рецептором. Большинство изученных ранее мутаций в гене *INS* приводят к повышению уровня циркулирующего в крови проинсулина и появлению легких симптомов СД. Например, мутация g.G1552C (p.R89P), локализованная в участке отщепления С-пептида от А-цепи, снижает образование активного инсулина и повышает уровень проинсулина в крови, однако она не ассоциирована с СД, поскольку структура мутантного гормона не изменяется [25] (рис. 4).

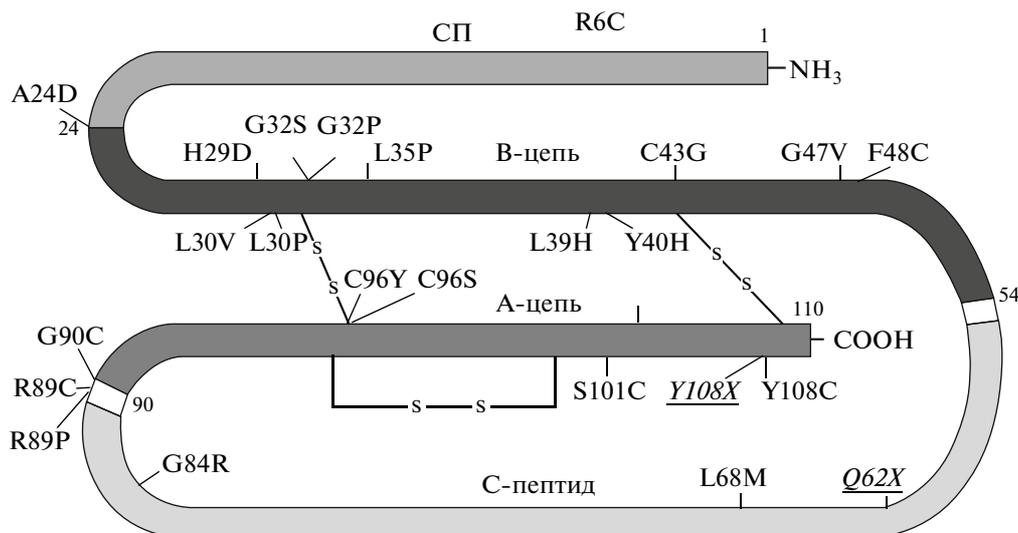


Рис. 4. Доминантные миссенс-мутации в препроинсулине человека. Подчеркнуты доминантная (**Y108X**) и рецессивная (**Q62X**) нонсенс-мутации.

Существенный прогресс был достигнут, когда мутации в гене *INS* начали изучать у больных перманентным неонатальным СД (permanent neonatal diabetes – PND), который развивается вскоре после рождения. Частота PND по разным оценкам варьирует, но составляет не менее 1 на 500000 новорожденных. Это заболевание связано преимущественно с мутациями в генах двух субъединиц АТР-чувствительных калиевых каналов: *KCNJ11* – в 50% случаев и *ABCC8* – в 8.6%. Мутации в гене *INS* находят примерно у 20% новорожденных с PND [26], реже встречаются мутации в других генах.

#### ДОМИНАНТНЫЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ *INS*, АССОЦИИРОВАННЫЕ С PND

Уже в первых работах в гене *INS* были идентифицированы 16 доминантных миссенс-мутаций, локализованных в критических участках молекулы препроинсулина и ассоциированных с ранним началом PND при нормальном весе новорожденных [27, 28]. Аутосомно-доминантные мутации A24D, G32S, G32R, C43G и R89C, как полученные от родителей, так и *de novo*, с различной частотой выявляются у детей. В двух семьях замена Y108C была унаследована от родителей, а мутации G47V, F48C, G90C, C96Y и S101C возникли *de novo* [28]. У пробандов без семейного обследования обнаружены замены H29D, L35P, G84R, C96S и Y103C в молекуле препроинсулина [27, 28]. Более половины доминантных мутаций в гене *INS* приводят к замене остатков Cys, формирующих внутримолекулярные дисульфидные связи, или к появлению дополнительных остатков Cys, которые образуют беспорядочные дисульфидные

связи, или располагаются вблизи S-S-мостиков (рис. 4).

В итальянской выборке больных PND обнаружены *de novo* доминантные мутации L30V, L30P, двоякая мутация L39H : T40H и Y108X [29]. Любопытно, что во всех публикациях *de novo* мутации в гене *INS* лишь констатируются, но не обсуждаются. Однако столь большое количество миссенс-мутаций, выявляемых только у детей с PND, и их отсутствие у родителей настораживает и вызывает беспокойство. Если больных с мутациями в *INS* или других генах, контролирующих функцию инсулина, удастся эффективно лечить современными методами, то заболеваемость СД будет неуклонно возрастать. В связи с этим вызывают удивление многочисленные утверждения о необходимости принимать срочные меры и увеличивать ассигнования на разработку новых методов терапии, чтобы предотвратить или затормозить рост числа больных СД в популяции. В действительности при повышении эффективности лечения число больных СД может только возрастать. Противоречивая ситуация, складывающаяся с СД, отражает обратную сторону медали, именуемой научно-техническим прогрессом, и позволяет прогнозировать существенное возрастание заболеваемости СД, который в очень отдаленном будущем без вмешательства посторонних сил или глобальных катаклизмов, может стать “нормой” в цивилизованном развитом обществе.

#### ОСОБЕННОСТИ МИССЕНС-МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *INS* И *LEP*

При сравнении эффектов миссенс-мутаций в генах лептина и инсулина возникает вопрос: по-

чему практически все миссенс-мутации в *INS* доминантные, а в *LEP* — рецессивные? (см. выше). Подобные различия могут определяться особенностями экспрессии генов *LEP* и *INS* и процессинга белков-предшественников этих гормонов.

Молекула лептина представляет собой полипептидную цепь из 146 аминокислотных остатков. Она формируется после отщепления сигнального пептида и замыкания одной внутримолекулярной дисульфидной связи (рис. 2). Поскольку лептин подвергается не очень сложному процессингу, то можно полагать, что миссенс-мутации в его гене нарушают фолдинг только мутантных молекул и не влияют на экспрессию аллеля дикого типа и фолдинг активного лептина. В отличие от лептина, для образования активного инсулина его предшественник (препроинсулин) должен подвергнуться более сложным модификациям. После отщепления сигнального пептида из молекулы проинсулина удаляется С-пептид, соединяющий цепи А и В, и в активной молекуле инсулина образуются две межцепочечных дисульфидных связи и одна — внутри цепи А (рис. 4). Миссенс-мутации в гене *INS* способны нарушить образование правильных S-S-связей и фолдинг не только мутантного гормона, но в результате образования межмолекулярных связей с препроинсулином дикого типа влиять на процессинг всех молекул инсулина.

Третичная структура синтезируемых белков формируется в эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи с участием гидрофобных, водородных и электростатических взаимодействий. Образование “правильных” внутримолекулярных дисульфидных связей может способствовать такому взаимодействию и фиксировать пространственную структуру белковых молекул. Поэтому изменение количества и расположения остатков Cys, а также обусловленные миссенс-мутациями изменения физико-химических свойств боковых радикалов аминокислотных остатков могут нарушать сворачивание всех молекул препроинсулина и подавлять секрецию активного гормона. Чрезмерное накопление в  $\beta$ -клетках предшественника инсулина с неправильной третичной структурой индуцирует стресс эндоплазматического ретикулума и последующий апоптоз  $\beta$ -клеток, что делает миссенс-мутации в *INS* доминантными, способными в гетерозиготном состоянии вызывать развитие PND.

В отличие от доминантных миссенс-мутаций, рецессивные мутации в *INS* блокируют экспрессию только мутантных аллелей, поэтому химерные белки, способные подавлять процессинг молекул инсулина, не синтезируются. Нонсенс-мутации, в зависимости от их локализации в кодируемом белке, могут быть как доминантными, так и рецессивными. Например, нонсенс-му-

тация **Y108X** является доминантной [30]. В результате этой мутации из С-концевой области препроинсулина удаляются только два остатка — Cys и Asn, и экспрессия мутантного аллеля не подавляется. В случае замены **Y108X** синтезируется аномальный проинсулин, нарушающий фолдинг и секрецию активного гормона. Напротив, рецессивная нонсенс-мутация **p.Q62X** локализуется в С-пептиде, удаляет из проинсулина цепь А и часть С-пептида [29], но не влияет на структуру В-цепи. Эта мутация практически блокирует экспрессию мутантного аллеля, в результате чего не синтезируется аномальный проинсулин, который мог бы подавлять экспрессию второго аллеля и фолдинг активного гормона. У гетерозиготных носителей мутации **p.Q62X** сохраняется секреция инсулина  $\beta$ -клетками, и PND не развивается (рис. 4). Однако у них сохраняется высокая вероятность развития СД2 в более позднем возрасте.

### РЕЦЕССИВНЫЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ *INS*

В отличие от доминантных, рецессивные мутации в гене *INS* отличаются большим разнообразием. Три замены, с.-331C > G, с.-331C > A и с.-332C > G, локализируются в *cis*-регуляторной области промотора — ССАСС, и замещают один из двух первых остатков С на А или G. На линиях  $\beta$ -клеток показано значительное (до 90%) снижение транскрипции гена с такой мутацией [30]. Делеция 24 п.н. (с.-366\_343del) в эволюционно консервативном участке промотора в 5'-некодирующей области блокирует, вероятно, экспрессию *INS*. Более протяженная делеция с.-370-?\_186+?del захватывает значительную часть промотора вместе с экзонами 1 и 2, т.е. ген *INS* ликвидируется, и не образуется химерный препроинсулин. Рецессивные мутации с.3G > T и с.3G > A изменяют структуру сайта инициации трансляции (ATG) в мРНК, блокируют экспрессию мутантного аллеля, поэтому аномальный белок не синтезируется. Мутация с.\*59A > G в 3'-нетранслируемой области снижает стабильность мРНК [30], но эта мутация не влияет на структуру пребелка и поэтому не нарушает фолдинг и секрецию активного инсулина.

Почти все рецессивные мутации в гомозиготном состоянии приводят к полному отсутствию инсулина. Такие мутации находят у детей с ранним началом PND, тогда как мутации с.-331C > G, с.-331C > A и с.-332C > G не блокируют полностью, а лишь снижают экспрессию *INS*, они ассоциированы с более поздним транзитным неонатальным СД. В отличие от детей с доминантными мутациями и нормальным весом при рождении (см. выше), вес новорожденных с гомозиготными рецессивными мутациями значительно снижен [30]. Эти различия могут быть обусловлены полным подавлением экспрессии гена *INS* у

носителей гомозиготных рецессивных мутаций и, как следствие, отсутствием инсулина, необходимого для нормального роста и развития эмбриона. Экспрессия же аллеля дикого типа у гетерозиготных носителей доминантных мутаций в гене *INS* может частично компенсировать отсутствие инсулина в период вынашивания потомства и поддерживать нормальный рост плода в эмбриогенезе.

В другой выборке детей с PND делеция с.-370-?\_186+?del (она же chr11:g 2138434\_2139080del646) обнаружена в семьях, где оба родителя и их ближайшие родственники являются гетерозиготными носителями этой мутации и не имеют симптомов СД. Однако у некоторых из них СД развивается в более позднем возрасте [31]. Это означает, что гетерозиготные рецессивные мутации в *INS* могут длительное время не проявляться, но предрасполагают к поздней манифестации СД.

Мутации в гене *INS* индуцируют “чистый” СД без сопутствующей патологии, при котором обычно с самого начала необходимы инъекции инсулина, тогда как PND, вызванный мутациями в других генах, обычно сочетается с определенными нарушениями физического и умственного развития. В последнем случае больные получают не только инсулин, но и пероральные сахароснижающие средства (метформин) [28].

### МУТАЦИИ В ГЕНЕ РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА (*INSR*)

Больше всего мутаций, вызывающих резистентность к инсулину, СД и другие заболевания, изучено в гене *INSR*. За 10 лет, прошедших после клонирования в 1985 г. кДНК *INSR* [32], в этом гене выявили 40 патологических мутаций. В зависимости от нарушений экспрессии гена и функции рецептора Тейлор и соавт. (Taylor et al.) выделяют пять классов мутаций в гене *INSR* [33]. К первому классу относятся мутации, подавляющие экспрессию *INSR*. Среди них семь нонсенс-мутаций, восемь делеций со сдвигом рамки считывания и замена AG → GG в акцепторном сайте сплайсинга интрона 4. Более 75% таких мутаций локализуются в инсулинсвязывающей  $\alpha$ -субъединице и в коротком внеклеточном участке  $\beta$ -субъединицы. Эти мутации практически “ликвидируют” рецептор. Тринадцать мутаций класса 2 нарушают посттрансляционный процессинг и встраивание рецептора в плазматическую мембрану. Они обнаружены в основном во внеклеточной  $\alpha$ -субъединице, за исключением р.A1135E [33]. Три миссенс-мутации класса 3 снижают сродство к инсулину и, как и мутации класса 2, локализуются в  $\alpha$ -субъединице и в сайте протеолитического расщепления белка-предшественника, блокируя высвобождение  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц. Более 12 мутаций, относящихся к классу 4, располагаются во

внутриклеточном каталитическом домене  $\beta$ -субъединицы и снижают индуцируемую инсулином тирозинкиназную активность рецептора. Исключение представляет мутация р.F382V, локализованная в  $\alpha$ -субъединице. В отличие от большинства рецессивных мутаций классов 1–3, мутации класса 4 являются доминантными [33].

Позднее проанализировали и другие модификации первичной структуры препроинсулина: р.P1236A, р.M1138K, р.A1121P [34] и р.R1174E [35], которые, как и открытые ранее миссенс-мутации класса 4 (R993Q, G1008V, K1088E, R1092Q, R1131Q, A1134T, A1135E, M1153I, R1164Q, R1178L, W1200S) [33], радикально изменяют физико-химические свойства боковых радикалов аминокислотных остатков. Они снижают ферментативную активность  $\beta$ -субъединицы, а также могут влиять на фолдинг и встраивание рецептора в мембрану.

Мутации класса 5 ускоряют распад рецептора инсулина. Предполагается, что они задерживают комплекс *INS/INSR* в цитоплазме после эндоцитоза и способствуют деградации рецептора в лизосомах вместо возвращения в плазматическую мембрану. К середине 90-х были найдены две такие мутации: р.K460E и р.N462S [33]. Третью мутацию, р.I119M, в гомозиготном состоянии обнаружили позже [36]. Мутации пятого класса не влияют на экспрессию *INSR* и процессинг синтезируемого белка, не препятствуют связыванию мутантного рецептора с инсулином и не подавляют активируемое гормоном фосфорилирование  $\beta$ -субъединицы по тирозину *in vitro*. Однако они снижают скорость отделения инсулина от рецептора в кислой цитоплазматической среде, замедляют повторное встраивание *INSR* в мембрану, уменьшают количество рецептора на поверхности клеток [33] и ассоциированы с легкой формой СД [36].

Интересные результаты получены при изучении мутации р.R252C, в гомозиготном состоянии ассоциированной с тяжелой резистентностью к инсулину. Эту мутацию трудно отнести к какому-либо классу [37], она приводит к задержке комплекса *INS/INSR* на мембране клеток и тормозит эндоцитоз. В клетках CHO наблюдается снижение сродства инсулина к *INSR* с мутацией р.R252C. Однако рецептор продолжает эффективно проводить гормональный сигнал, возможно, вследствие задержки комплекса *INS/INSR* на мембране, что может увеличивать продолжительность действия инсулина и компенсировать снижение аффинности связывания рецептора с гормоном. Инсулин активирует аутофосфорилирование остатков тирозина в мутантном рецепторе так же эффективно, как в *INSR* дикого типа. При этом полностью сохраняется фосфорилирование остатков Туг в цитоплазматических медиаторах

инсулина — IRS1 и IRS2, но снижается фосфорилирование Shc, ERC1/2 и уменьшается включение тимидина в ДНК, что может быть обусловлено более медленным проникновением комплекса INS/INSR в цитоплазму, необходимом для осуществления некоторых эффектов гормона [37]. Полученные результаты позволяют полагать, что инсулин действует не только через рецептор, закрепленный на внешней поверхности клеток, но и через комплекс INS/INSR в мембране эндосом, проникающих в цитоплазму [37].

К настоящему времени в гене *INSR* найдено более 100 мутаций, ассоциированных с различными патологическими проявлениями. Мутации, в гомозиготном состоянии подавляющие экспрессию гена, связаны с синдромом Доноу (Donahue syndrome — лепречаунизм, *leprechaunism*), которой характеризуется задержкой роста в эмбриональном и постнатальном периоде, задержкой развития, снижением жировых запасов (липоатрофия), изменением морфологии и фенотипа, потемнением кожи (*acanthosis nigricans*) и ранней смертью [33, 38, 39]. Более легкая патология со сниженной летальностью развивается при синдроме Робсона—Менденхала (Robson—Mendenhall syndrome), который также вызывается мутациями в гене *INSR* [36, 37]. Примером такой мутации может быть сложная гетерозиготная замена р.Р209Н/р.С359S, которая существенно снижает экспрессию *INSR*, но не влияет на связывание мутантного рецептора с инсулином, на проведение гормонального сигнала *in vitro* и на активируемое инсулином аутофосфорилирование остатков Туг в β-субъединице [40].

### ЛИПОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ИНСУЛИНА

Функции инсулина удобно изучать у больных с нарушениями экспрессии *INSR*, поскольку, в отличие от носителей мутаций в *INS*, которые страдают от недостаточной секреции инсулина β-клетками и получают инъекции экзогенного гормона, у больных с мутациями в гене *INSR* отсутствует рецептор, они нечувствительны к инсулину и препаратам, повышающим эффективность его действия. Неспособность инсулина выполнять свою функцию накапливается у них в течение длительного времени и показывает, какое действие гормона не проявляется в отсутствие рецептора у больных, у которых вместе с другими симптомами снижается накопление жировых запасов.

Мутации в генах *INS* и *INSR* проявляются по-разному. Дефицит инсулина всегда вызывает СД, тогда как гомозиготные мутации в *INSR* индуцируют упомянутый выше синдром Доноу. Примечательно, что у носителей мутаций в гене *INSR* СД не является самой тяжелой патологией, несмотря на высокую резистентность к инсулину [33]. Напротив, рассмотренные выше мутации в

генах *LEP* или *LEPR* ассоциированы со сходными нарушениями физиологических функций: ожирением, задержкой полового развития, резистентностью к инсулину, СД2 и повышенной восприимчивостью к респираторным заболеваниям. Результаты изучения гена *INSR* позволяют полагать, что инсулин регулирует не только углеводный, но и жировой обмен, стимулируя накопление триглицеридов в жировых депо.

Пока остается неясным, какую роль может играть такое действие инсулина в регуляции углеводного обмена и поддержании концентрации сахара крови на нормальном уровне. Однако вполне возможно, что инсулин и есть тот липогенный фактор, который стимулирует отложение триглицеридов в жировых депо, и действие которого подавляется лептином, воздействующим непосредственно на адипоциты жировой ткани. Поэтому дефицит лептина или нарушение функции его рецептора “растормаживают” липогенное действие инсулина и приводят к чрезмерному накоплению жировых запасов, способных изменять углеводный обмен и повышать уровень глюкозы в крови.

Хотя СД и не считается самой тяжелой патологией при дефиците рецептора инсулина, он может индуцироваться некоторыми гетерозиготными мутациями в гене *INSR*. Например, гомозиготная нонсенс-мутация р.Р331Х ведет к полному отсутствию рецептора и ассоциирована с лепречаунизмом, чрезвычайно тяжелой резистентностью к инсулину и множественными патологиями [41]. Гетерозиготные родители больного с такой мутацией остаются здоровыми и не имеют симптомов СД. Однако в другой семье (без родственных связей с первой) гетерозиготная мутация р.Р331Х сочетается у девочки с СД2 и высокой резистентностью к инсулину. Ее отец с такой же мутацией в 40 лет остается здоровым, но у него нарушена толерантность к глюкозе, что обычно предшествует развитию СД, а бабушка 66 лет болеет СД2 и в течение 15 лет принимает метформин [38]. Легкая и более поздняя форма патологии (только СД2), связанной с гетерозиготной мутацией р.Р331Х, локализованной вблизи N-конца α-субъединицы, обусловлена, по всей вероятности, подавлением экспрессии мутантного аллеля с сохранением активного рецептора, кодируемого аллелем дикого типа. Полученные результаты показывают, что гетерозиготные рецессивные мутации не только в гене *INS* [31], но и в *INSR*, могут не проявляться длительное время и индуцировать СД2 по прошествии многих лет. Поэтому СД2, который часто возникает в позднем возрасте, может быть ассоциирован с рецессивными мутациями в других генах, контролирующих функции инсулина.

Изучение мутаций в генах инсулина, его рецептора и в других генах, обеспечивающих нор-

мальное функционирование инсулина, вынуждает прогнозировать значительное возрастание заболеваемости, что делается практически во всех публикациях. Однако нигде не акцентируется внимание на причинах столь угрожающего распространения СД в популяции. Клятва Гиппократта, фирмы, совершенствующие методы терапии СД, и абсолютно правильное убеждение в необходимости использования всех доступных и эффективных методов, будут препятствовать пониманию серьезности складывающейся ситуации. Задержать этот процесс могло бы консультирование всех семей о возможном будущем их детей по результатам исследования индивидуальных геномов, но выполнить такую работу в настоящее время слишком трудно и вряд ли возможно, однако она необходима.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Montague C.T., Farooqi I.S., Whitehead J.P., Soos M.A., Rau H., Wareham N.J., Sewter C.P., Digby J.E., Mohammed S.N., Hurst J.A., Cheetham C.H., Earley A.R., Barnett A.H., Prins J.B., O'Rahilly S. 1997. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature*. **387**, 903–908.
- Farooqi I.S., Matarese G., Lord G.M., Keogh J.M., Lawrence E., Agwu C., Sanna V., Jebb S.A., Perna F., Fontana S., Lechler R.I., DePaoli A.M., O'Rahilly S. 2002. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J. Clin. Invest.* **110**, 1093–1103.
- Fatima W., Shahid A., Imran M., Manzoor J., Hasnain S., Rana S., Mahmood S. 2011. Leptin deficiency and leptin gene mutations in obese children from Pakistan. *Int. J. Pediatr. Obesity*. **6**, 419–427.
- Saeed S., Butt T.A., Anwer M., Arslan M., Froguel P. 2012. High prevalence of leptin and melanocortin-4 receptor gene mutations in children with severe obesity from Pakistani consanguineous families. *Mol. Genet. Metab.* **106**, 121–126.
- Strobel A., Issad T., Camoin I., Ozata M., Strosberg A.D. 1998. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat. Genet.* **18**, 213–215.
- Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J.M. 1994. Positional cloning of mouse obese gene and its human homolog. *Nature*. **372**, 425–432.
- Ozata M., Ozdemir C., Licinio J. 1999. Human leptin deficiency caused by a missense mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin action, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **84**, 3686–3695.
- Licinio J., Caglayan S., Ozata M., Yildiz B.O., de Miranda P.B., O'Kirwan F., Whitby R., Liang L., Cohen P., Bhasin S., Krauss R.M., Veldhuis J.D., Wagner A.J., DePaoli A.M., McCann S.M., Wong M.-L. 2004. Phenotypic effects of leptin replacement on morbid obesity, diabetes mellitus, hypogonadism, and behavior in leptin-deficient adults. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **101**, 4531–4536.
- Paz-Filho G., Esposito K., Hurwitz B., Sharma A., Dong C., Andreev V., Delibasi T., Erol H., Ayala A., Wong M.-L., Licinio J. 2008. Changes in insulin sensitivity during leptin replacement therapy in leptin-deficient patients. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **295**, E1401–1408.
- Galgani J.E., Greenway F.L., Caglayan S., Wong M.-L., Licinio L., Ravussin E. 2010. Leptin replacement prevents weight loss-induced metabolic adaptation in congenital leptin-deficient patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 851–855.
- Paz-Filho G., Mastrorandi C., Delibasi T., Wong M.-L., Licinio J. 2010. Congenital leptin deficiency: diagnosis and effects of leptin replacement therapy. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.* **54**, 690–697.
- Чехранова М.К., Карпова С.К., Яцишина С.Б., Панков Ю.А. 2008. Новая мутация с.422С > G (р.С141С) в гомо- и гетерозиготном состоянии в гене лептина человека. *Биоорганическая химия*. **34**, 854–856.
- Mazen I., El-Gammal M., Abdel-Hamid M., Amr K. 2009. A novel homozygous missense mutation of the leptin gene (N103K) in the obese Egyptian patient. *Mol. Genet. Metab.* **97**, 305–308.
- Niv-Spektor L., Shpilman M., Grupi A., Gertler A. 2010. The obese phenotype-inducing N82K mutation in human leptin disrupts receptor-binding and biological activity. *Mol. Genet. Metab.* **100**, 193–197.
- Fischer-Posovszky P., von Schnurbein J., Moepps B., Lahr G., Strauss G., Barth T.F., Kassubek J., Mühleder H., Möller P., Debatin K.-M., Gierschik P., Wabitsch M. 2010. A new missense mutation in the leptin gene causes mild obesity and hypogonadism without affecting T cell responsiveness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **95**, 2836–2840.
- Clement K., Vaisse C., Lahlou N., Cabrol S., Pelloux V., Cassuto D., Gourmelen M., Dina C., Chambaz J., Lacombe J.M., Basdevant A., Bougnères P., Lebacqz Y., Froguel P., Guy-Grand B. 1998. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*. **392**, 398–401.
- Nizard J., Dommergue M., Clement K., Pitiè-Salpêtrière H. 2012. Pregnancy in a woman with a leptin-receptor mutation. *N. Engl. J. Med.* **366**, 1064–1065.
- Farooqi I.S., Wangensteen T., Collins S., Kimber W., Matarese G., Keogh J.M., Lank E., Bottomley B., Lopez-Fernandez J., Ferraz-Amaro I., Dattani M.T., Ercan O., Myhre A.G., Retterstol L., Stanhope R., Edge J.A., McKenzie S., Lessan N., Ghotsi M., De Rosa V., Perna F., Fontana S., Barroso I., Undlien D.E., O'Rahilly S. 2007. Clinical and molecular genetic spectrum of congenital deficiency of the leptin receptor. *N. Engl. J. Med.* **356**, 237–247.
- Kimber W., Peelman F., Prieur X., Wangensteen T., O'Rahilly S., Tavernier J., Farooqi I.S. 2008. Functional characterization of naturally occurring pathogenic mutations in the human leptin receptor. *Endocrinology*. **149**, 6043–6052.
- Mazen I., El-Gammal M., Abdel-Hamid M., Farooqi I.S., Amr K. 2011. Homozygosity for a novel missense mutation in the leptin receptor gene (P316T) in two Egyptian cousins with severe early onset obesity. *Mol. Genet. Metab.* **102**, 461–464.

21. Andiran N., Celik N., Andiran F. 2011. Homozygosity for two missense mutations in the leptin receptor gene (P316T:W646C) in Turkmenian girl with severe early-onset obesity. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **24**, 1043–1045.
22. Панков Ю.А. 2010. Генетические вариации в регуляции энергетического баланса. *Биомед. химия.* **56**, 152–167.
23. Friedman J.M. 2011. Leptin and the regulation of body weight. *Keio J. Med.* **60**, 1–9.
24. Nanjo K., Sanke K., Mlyano M., Okai K., Sowa R., Kondo M., Nishimura S., Iwo K., Miyamura K., Given B.D., Chan S.J., Tager H.S., Steiner D.F., Rubenstein A.H. 1986. Diabetes due to secretion of a structurally abnormal insulin (insulin Warayama). *J. Clin. Invest.* **77**, 514–519.
25. Warren-Perry M.G., Manley S.E., Ostrega D., Polonsky K., Mussett S., Brown P., Turner R.C. 1997. A novel point mutation in the insulin gene giving rise to hyperproinsulinemia. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* **82**, 1629–1631.
26. Russo L., Iafusco D., Brescianini S., Nocerino V., Bizzarri C., Toni S., Cerutti F., Monciotti C., Pesavento R., Iughetti L., Bernardini L., Bonfanti R., Gargantini L., Vanelli M., Aguilar-Bryan L., Stazi M.A., Grasso V., Colombo C., Barbetti F. 2011. Permanent diabetes during the first year of life: multiple gene screening in 54 patients. *Diabetologia.* **54**, 1693–1701.
27. Stoy J., Edghill E.L., Flanagan S.E., Ye H., Paz V.P., Pluzhnikov A., Below J.E., Hayes M.G., Cox N.J., Lipkind G.M., Lipton R.B., Greeley S.A.W., Patch A.-M., Ellard S., Steiner D.F., Hattersley A.T., Philipson L.H., Bell G.I. 2007. Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **104**, 15040–15044.
28. Edghill E.L., Flanagan S.E., Patch A.-M., Boustred C., Parrish A., Shields B., Shepherd M.H., Hussain K., Kapoor R.R., Malecki M., MacDonald M.J., Stoy J., Steiner D.F., Philipson L.H., Bell G.I., Hattersley A.T., Ellard S. 2008. Insulin mutation screening in 1044 patients with diabetes. Mutations in the *INS* gene are a common cause of neonatal diabetes but a rare cause of diabetes diagnosed in childhood or adulthood. *Diabetes.* **57**, 1034–1042.
29. Colombo C., Porzio O., Liu M., Massa O., Vasta M., Salardi S., Beccaria L., Monciotti C., Toni S., Pedersen O., Hansen T., Federici L., Pesavento R., Cadario F., Federici G., Ghirri P., Arvan P., Iafusco D., Barbetti F. 2008. Seven mutations in the human insulin gene linked to permanent neonatal/infancy-onset diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* **118**, 2148–2156.
30. Garin I., Edghill E.L., Akerman I., Rubio-Gabezas O., Rica I., Locke J.M., Maesto M.A., Alshaikh A., Bundak R., del Castillo G., Deeb A., Deiss D., Fernandez J.M., Godbole K., Hussain K., O'Connell M., Klupa T., Kolouskova S., Mohsin F., Perlman K., Sumnik Z., Rial J.M., Ugarte E., Vasanthi T., Johnstone K., Flanagan S.E., Martinez R., Castaño C., Patch A.-M., Fernández-Rebollo E., Raile K., Morgan N., Harries L.W., Castaño L., Ellard S., Ferrer J., de Nancrares G.P., Hattersley A.T. 2010. Recessive mutations in the *INS* gene result in neonatal diabetes through reduced insulin biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **107**, 3105–3110.
31. Raile K., O'Connell M., Galler A., Werther G., Kühnen P., Krude H., Blankenstein O. 2011. Diabetes caused by insulin gene (*INS*) deletion: clinical characteristics of homozygous and heterozygous individuals. *Eur. J. Endocrinol.* **165**, 255–260.
32. Ebina Y., Ellis L., Jarnagin K., Ederly M., Graf L., Clauser E., Ou J.H., Masiarz F., Kan Y.W., Goldfine I.D. 1985. Human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone-activated trans-membrane signaling. *Cell.* **40**, 747–758.
33. Коллер Э.А., Аксели Д., Тейлор С.И. 2003. Мутации в гене рецептора инсулина у пациентов с инсулинорезистентностью. В кн.: *Молекулярная эндокринология. Фундаментальные исследования и их отражение в клинике.* Ред. Вайнтрауб Б.Д. М.: Медицина, 277–290.
34. Sleigh A., Raymond-Barker P., Thackray K., Porter D., Hatunic M., Vottero A., Burren C., Mitchell C., McIntyre M., Brage S., Carpenter T.A., Murgatroyd P.R., Brindle K.M., Kamp G.J., O'Rahilly S., Semple R.K., Savage D.B. 2011. Mitochondrial dysfunction in patients with primary congenital insulin resistance. *J. Clin. Invest.* **121**, 2457–2461.
35. Højlund K., Beck-Nielsen H., Flyvbjerg A., Frystyk J. 2012. Characterisation of adiponectin multimers and the IGF axis in humans with a heterozygous mutation in the tyrosine kinase domain of the insulin receptor gene. *Eur. J. Endocrinol.* **166**, 511–519.
36. Raffan T., Soos A., Rocha N., Tuthill A., Thomsen A.R., Hyden C.S., Gregory J.W., Hindmarsh P., Dattani M., Cochran E., Al Kaabi J., Gordon P., Barroso I., Morling N., O'Rahilly S., Semple R.K. 2011. Founder effect in the Horn of Africa for an insulin receptor mutation that may impair receptor recycling. *Diabetologia.* **54**, 1057–1065.
37. Hamer I., Foti M., Emkey R., Cordier-Bussat M., Philippe J., De Meyts P.J., Maeder C., Kahn C.R., Carpenter J.-L. 2002. An arginine to cysteine(252) mutation in insulin receptors from a patients with severe insulin resistance inhibits receptor internalization but preserves signaling events. *Diabetologia.* **45**, 657–667.
38. Atabek M.E., Pirgon O. 2006. Some effect of metformin on insulin resistance in an infant with leprechaunism. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **19**, 1257–1261.
39. Thiel C.T., Knebel B., Knerr I., Sticht H., Müller-Wieland D., Zenker M., Reis A., Dörr H.G., Rauch A. 2008. Two novel mutations in the insulin binding subunit of the insulin receptor gene without insulin binding impairment in a patient with Robson-Mendenhall syndrome. *Mol. Genet. Metab.* **94**, 356–362.
40. Tuthill A., Semple R.K., Day R., Soos M.A., Sweeney E., Seymour P.J., Didi M., O'Rahilly S. 2007. Functional characterization of a novel insulin receptor mutation contributing to Robson-Mendenhall syndrome. *Clin. Endocrinol.* **66**, 21–26.
41. Takahashi I., Yamada Y., Kadowaki H., Horikoshi M., Kadowaki T., Narita T., Tsuchida S., Noguchi A., Koizumi A., Takahashi T. 2010. Phenotypical variety of insulin resistance in a family with a novel mutation of the insulin receptor gene. *Endocrine J.* **57**, 509–516.