

Нарушение регуляторных механизмов сигнального пути mTOR при остеоартрозе

Е.В. Четина, Е.А. Братыгина, Е.М. Зайцева,
Е.П. Шаропова, Л.И. Алексеева, Н.В. Демин, С.А. Макаров

Федеральное
государственное
бюджетное
учреждение «Научно-
исследовательский
институт
ревматологии» РАМН,
лаборатория генетики,
Москва

Laboratory of Genetics,
Research Institute of
Rheumatology, Russian
Academy of Medical
Sciences, Moscow

Контакты: Елена
Васильевна Четина
etchetina@mail.ru

Contact: Elena
Vasilyevna Chetina
etchetina@mail.ru

Поступила 11.05.12

Цель — изучить характер нарушения регуляторных механизмов сигнального пути mTOR (mammalian target of rapamycin) посредством мониторинга экспрессии генов в крови больных остеоартрозом (ОА) на разных стадиях заболевания.

Материал и методы. В исследование включено 33 амбулаторных больных ОА, 14 больных ОА перед эндопротезированием коленного сустава и 27 здоровых людей — контроль (средний возраст $58,0 \pm 7,4$; $56,5 \pm 8,9$ и $55,0 \pm 8,3$ года соответственно). Общую РНК выделяли из крови и использовали для определения уровня экспрессии генов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для АМФ-активируемой протеинкиназы (АМПК); фактора, индуцируемого гипоксией 1α (ФИГ1 α); белков, лимитирующих скорость гексозаминового сигнального пути, — глутамин-фруктозо-6-фосфатамидотрансферазы и ацетил-глюкозаминилтрансферазы, а также транспортера глюкозы GLUT1 и компонентов 6-й и 7-й ступеней гликолитического пути — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и фосфоглицерат киназы 1 соответственно; генов, связанных с липогенезом, — синтазы жирных кислот (СЖК) и активностью пентозофосфатного пути — глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы в крови больных ОА на разных стадиях заболевания.

Результаты. Анализ экспрессии генов показал, что у больных ОА с низкой экспрессией гена *mTOR* (подгруппа LOW) экспрессия генов *AGT* и *GLUT1* оказалась существенно ниже, а гена *АМПК* — выше, чем у здоровых лиц. У больных ОА с высокой экспрессией гена *mTOR* (подгруппа HIGH) экспрессия всех исследуемых генов значительно повышена, за исключением гена *СЖК*, причем наибольшее превышение экспрессии по сравнению с контрольными лицами наблюдалось в случае генов *АМПК* и *ФИГ1 α* . У больных с поздней стадией заболевания (подгруппа ES) экспрессия всех исследованных генов, включая ген *СЖК*, оказалась повышенной по сравнению со здоровыми лицами.

Заключение. Развитие ОА сопровождается значительным снижением эффективности энергетического метаболизма. При этом у больных с низкой экспрессией гена *mTOR* недостаток энергии может быть связан с ослаблением транспорта метаболитов в клетки. У больных с высокой экспрессией *mTOR* он может быть обусловлен дефицитом конечного акцептора электронов — кислорода, а у больных на поздней стадии заболевания не исключено патологическое перераспределение энергетических субстратов в пользу липогенеза.

Ключевые слова: остеоартроз, экспрессия генов, mTOR, энергетический метаболизм, кровь.

IMPAIRED REGULATORY MECHANISMS OF THE mTOR SIGNALING PATHWAY IN OSTEOARTHRITIS

E.V. Chetina, E.A. Bratygina, E.M. Zaitseva, E.P. Sharapova, A.L. Alekseyeva, N.V. Demin, S.A. Makarov

Objective: to study the pattern of impaired regulatory mechanisms of the mammalian target of rapamycin (TOR) signaling pathway, by monitoring gene expression in the blood of patients with osteoarthritis (OA) at different stages of the disease.

Subjects and methods. The study covered 33 outpatients with OA, 14 patients with this condition prior to knee joint endoprosthesis, and 27 healthy individuals (controls) (mean age 58.0 ± 7.4 , 56.5 ± 8.9 , and 55.0 ± 8.3 years, respectively). Total RNA was isolated from their blood and used to determine the level of gene expression by a real-time polymerase chain reaction for AMP-activated protein kinase (AMPK), hypoxia-inducible factor-1 α (HIF1 α), the rate-limiting proteins of the hexosamine signaling pathway — glutamine-fructose-6-phosphate amidotransferase and acetylglucosaminyltransferase, as well as the glucose transporter GLUT1 and steps 6 and 7 glycolytic pathway components — glucose-6-phosphate dehydrogenase and phosphoglycerate kinase-1, respectively; the lipogenesis-related genes — fatty acid synthase (FAS) and the activity of the pentose phosphate pathway — glucose-6-phosphate dehydrogenase in the blood of patients with OA at different stages of the disease.

Results. Analysis of gene expressions showed that in the OA patients with a low expression of the *mTOR* gene (a LOW subgroup), the expression of *AGT* and *GLUT1* genes proved to be significantly lower and that of the *AMPK* gene was higher than in the healthy individuals. In the OA patients with a high expression of the *mTOR* gene (a HIGH subgroup), the expression of all the genes under study was much higher, except for the FAS gene; moreover, the greatest expression excess as compared to the controls was observed for the *AMPK* and *HIF1 α* genes. In the patients with end-stage disease (an ES subgroup), the expression of all the study genes, including the *FAS* gene, turned out to be higher than in the healthy individuals.

Conclusion. The development of OA is accompanied by a considerable decrease in the efficiency of energy metabolism. At the same time, in the patients with a low *mTOR* gene expression, energy deficiency may be due to decreased cellular metabolite transport. It may be caused by the deficiency of the end electron acceptor oxygen in the patients with a high *mTOR* gene expression and the pathological redistribution of energy substrate in favor of lipogenesis cannot be ruled out in those with end-stage disease.

Key words: osteoarthritis, gene expression, mTOR, energy metabolism, blood.

Остеоартроз (ОА) является наиболее распространенным заболеванием суставов, особенно у пожилых людей, которое наносит значительный социально-экономический ущерб [1]. В настоящее время не существует

терапевтических средств, излечивающих ОА. В руководствах Европейской ревматической лиги (EULAR), Американской коллегии ревматологов (ACR), Международного общества по изучению остеоартроза (OARSI) рекомен-

дуются применение как фармакологических, так и нефармакологических средств для лечения этого заболевания. Они, в частности, включают снижение массы тела (которое предполагает изменение структуры питания, а следовательно, способно модифицировать метаболизм клеток), а также использование таких модифицирующих заболевание агентов, как глюкозамин и хондроитин сульфат, которые могут влиять на обменные процессы.

В последние годы изменились представления о нутриентах — глюкозе, аминокислотах, жирных кислотах и кислороде, которые обычно рассматривались как метаболическое топливо, используемое для производства высокоэнергетических молекул, таких как аденозинтрифосфат (АТФ) и НАД(Ф)Н. Между тем эти соединения также служат важными сигнальными молекулами в сложных сигнальных путях, которые чувствительны к нутриентам. Сигнальные пути нутриентов активируют сигнальные каскады, которые регулируют различные ветви энергетического метаболизма и вследствие этого влияют на рост клеток, их пролиферацию и их выживание. В настоящее время известны три основных сигнальных пути нутриентов: mTOR (mammalian target of rapamycin) — СПМТ, аденозинмонофосфат-активируемой протеин киназы (АМПК) и гексозаминовый (СПГ) [2, 3].

Система СПМТ контролирует доступность внутриклеточных аминокислот, статус клеточной энергии и объединяет эту информацию с внешними сигналами, поступающими от аминокислот, глюкозы или гормонов с рецепторов на поверхности клеток. Сенсорная информация впоследствии биохимически анализируется и формирует координированный ответ, который контролирует рост клеток и пролиферацию, а также другие аспекты клеточных функций. Необходимость этого сигнального пути для регуляции роста клеток и биосинтеза белка подтверждается тем, что функция и компоненты СПМТ одинаковы у всех эукариот — от дрожжей до млекопитающих [4].

Регуляция СПМТ относительно сложна и включает множественные механизмы, такие как фосфорилирование, изменение локализации белка mTOR, регуляцию его активности путем связывания с дополнительными белками цитоплазмы. Более того, эти регуляторные механизмы находятся под контролем различных сенсоров (и сигнальных путей), которые детектируют изменения в доступности нутриентов — разветвленных аминокислот, в особенности лейцина [5]; кислорода, посредством фактора, индуцируемого гипоксией 1 α (ФИГ1 α) [6] или глюкозы [7].

Нарушение транспорта глюкозы, который регулируется активностью белков-транспортеров из семейства GLUT, или ее метаболизма может влиять на функционирование многих метаболических путей посредством изменения экспрессии ключевых генов. К ним относятся гены, кодирующие 6-ю и 7-ю ступени гликолитического пути глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (ГПГ6ФД) и фосфоглицерат киназу (ФГК1) [8], гены, кодирующие белки, лимитирующие скорость гексозаминового сигнального пути — глутамин-фруктозо-6-фосфатамидотрансферазу (ГФАТ) и ацетил-глюкозаминилтрансферазу (АГТ) [9], связанный с начальной стадией липогенеза ген синтазы жирных кислот (СЖК) [10], а также ген включения альтернативных путей распада глюкозы, например пентозофосфатного пути с его ключевым ферментом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (ППГ6ФД) [8].

Кроме того, одним из наиболее важных регуляторов СПМТ служит информация о внутриклеточном уровне энергии, доступной для процессов роста и пролиферации клеток, которая поступает от сигнального пути АМПК [11] и суммирует данные об эффективности функционирования центральных путей генерации АТФ — гликолизу и цикле трикарбоновых кислот. АМПК является гетеротримерной серин-треонин киназой, которая активируется при недостатке внутриклеточной энергии и стимулирует катаболические пути для генерации АТФ, одновременно ингибируя анаболические пути синтеза макромолекул (белков, жирных кислот, липидов, холестерина и гликогена) [12]. В результате происходит восполнение уровня АТФ и восстановление гомеостаза энергии. Поэтому СПМТ является общей мишенью для множественных сигналов от различных факторов внешней среды.

Наши предыдущие исследования показали, что значительное превышение активности СПМТ у больных ОА связано с более тяжелым течением заболевания и является прогностическим признаком необходимости эндопротезирования [13]. Напротив, у других больных ОА активность этого сигнального пути была ниже, чем у здоровых лиц. Кроме того, ранее мы также обнаружили, что разрушение коллагена суставного хряща при ОА можно подавить путем активации гликолиза [14], что указывает на недостаточную эффективность энергетического метаболизма у больных ОА. В связи с этим, чтобы понять природу нарушений активности сигнального пути mTOR при ОА, необходимо оценить изменения в его регуляции.

В данном исследовании изучалась экспрессия генов — регуляторов сигнального пути mTOR у больных ОА на разных стадиях заболевания. Показано, что изменение его функционирования обусловлено нарушением энергетического метаболизма.

Материал и методы

Пациенты. Включено 33 амбулаторных больных ОА в возрасте от 45 до 76 лет (средний возраст 58,4 $\pm$ 7,4 года), имеющих нормальную минеральную плотность костной ткани (МПКТ), 14 больных ОА перед эндопротезированием коленного сустава в возрасте от 49 лет до 71 года (средний возраст 56,5 $\pm$ 8,9 года), а также 27 здоровых людей (контроль) в возрасте от 42 до 74 лет (средний возраст 55,6 $\pm$ 8,3 года).

Выделение РНК, реакция обратной транскрипции и полимеразная цепная реакция в режиме реального времени. Из собранных образцов цельной крови, клеточных фракций и образцов сыворотки выделена общая РНК, которая переведена в комплементарную ДНК посредством обратнотранскриптазной (ОТ) реакции, как описано ранее [15].

Посредством количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в образцах периферической крови и хряща проведена оценка уровней экспрессии ключевых генов, связанных с основными фазами онтогенеза клетки: пролиферацией, аутофагией и апоптозом [15]. Использовали готовые праймеры и зонды для TaqMan-методики (Applied Biosystems Int., USA): АМПК (Hs00272166_m1), АГТ (Hs00269228_m1), ГФАТ (Hs00899865_m1), GLUT1 (Hs00197884_m1), ГПГ6ФД (4333764), ФГК1 (Hs99999906_m1), СЖК (Hs00188012_m1), ППГ6ФД (Hs00188728_m1), ФИГ1 α (Hs00936368_m1). β -Actin использовали в качестве гена домашнего хозяйства. Количественную оценку уровней мРНК проводили на приборе 7300 (Applied Biosystems Int.,

США), как описано ранее [15]. В системе ПЦР в реальном времени относительная экспрессия каждого гена рассчитывается по сравнению с контролем, который равен 1.

Результаты

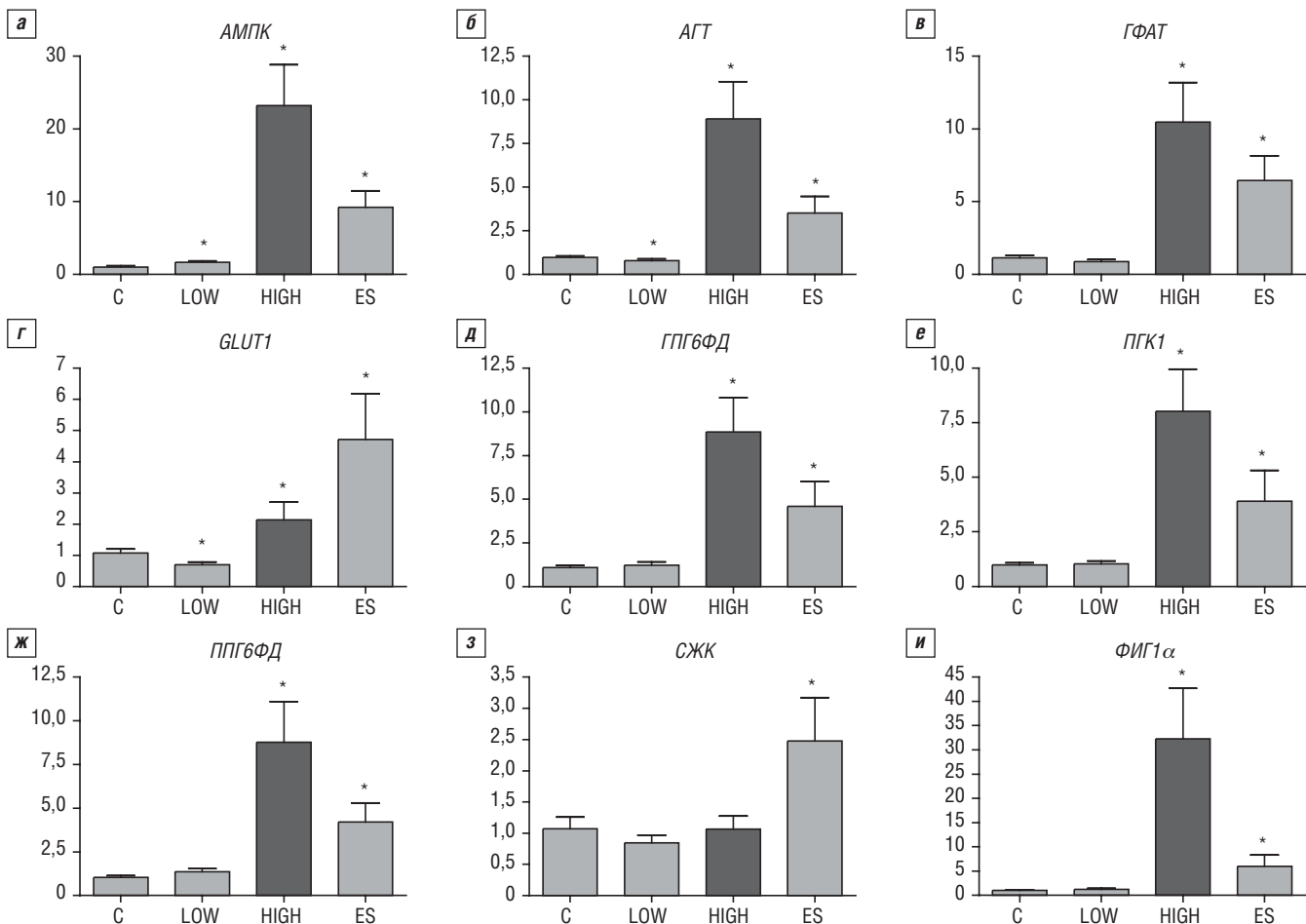
Проведена оценка уровня относительной экспрессии генов, кодирующих ключевые белки основных метаболических путей, способных контролировать сигнальный путь mTOR: АМПК, ФИГ1α, белков, лимитирующих скорость гексаминового сигнального пути, — ГФАТ и АГТ, транспортера глюкозы GLUT1 и компонентов 6-й и 7-й ступеней гликолитического пути — ГПГ6ФД и ФГК1, генов, связанных с липогенезом, — СЖК и активностью пентозофосфатного пути — ППГ6ФД — в крови больных ОА на разных стадиях заболевания.

Экспрессия генов в крови больных остеоартрозом с низкой экспрессией гена mTOR (подгруппа LOW). Результаты этих исследований показали, что у больных ОА с низкой экспрессией гена mTOR (подгруппа LOW) большинство вышеперечисленных генов экспрессировалось на уровне контроля (см. рисунок). Однако экспрессия генов АГТ и GLUT1 оказалась существенно ниже, а гена АМПК — выше, чем у здоровых лиц. Поскольку АМПК активируется аденозинмонофосфатом (АМФ), который накапливается в клетке в условиях недостатка АТФ, повышение экспрессии АМПК свидетельствует о лимитировании энергетиче-

ского метаболизма в клетках крови данной подгруппы больных ОА. Это сопровождалось существенным понижением экспрессии гена АГТ. При нормальном уровне экспрессии его непосредственного предшественника — гена ГФАТ — это может приводить к накоплению в клетках уридин дифосфата-N-ацетилглюкозамина [2, 3].

Экспрессия генов в крови больных остеоартрозом с высокой экспрессией гена mTOR (подгруппа HIGH). У больных ОА с высокой экспрессией гена mTOR (подгруппа HIGH) экспрессия всех исследуемых генов значительно повышена, за исключением гена СЖК, экспрессия которого сравнима с группой контроля и подгруппой LOW (см. рисунок). Следует также отметить, что наибольшее превышение экспрессии по сравнению с контрольными лицами наблюдалось в случае генов АМПК и ФИГ1α (в 22 и 32 раза соответственно). Это может свидетельствовать о недостаточной продукции энергии (АТФ), сопряженной с гипоксией.

Экспрессия генов в крови больных остеоартрозом перед эндопротезированием (подгруппа ES). У больных с поздней стадией заболевания (подгруппа ES) повышена экспрессия всех исследованных генов, включая СЖК, по сравнению со здоровыми лицами (см. рисунок). Это указывает на особую роль гена СЖК и нарушения процесса синтеза жирных кислот в ускорении разрушения суставного хряща и, в особенности, в развитии болевого синдрома [16, 17], приводящих к необходимости эндопротезирования.



Экспрессия генов ключевых метаболических путей, регулирующих сигнальный путь mTOR, в крови больных ОА на разных стадиях заболевания (а — и). С — здоровые лица, LOW — подгруппа больных ОА с низкой экспрессией гена mTOR; HIGH — подгруппа больных ОА с высокой экспрессией гена mTOR; ES — больные ОА на поздней стадии заболевания

Обсуждение

У больных ОА в подгруппе LOW метаболические нарушения, приводящие к ингибированию гена *mTOR*, могут быть связаны с недостаточностью энергетического метаболизма, смещением баланса в сторону АМФ, что приводит к активации сигнального пути АМПК — ингибитора *mTOR* [18]. При этом лимитирование энергии, вероятно, обусловлено ослаблением транспорта глюкозы в клетку, поскольку понижена экспрессия ее транспортера *GLUT1*, тогда как экспрессия ключевых генов гликолиза *ГПГ6ФД* и *ФГК1* не отличается от контроля.

Кроме того, в связи с подавлением экспрессии гена *АГТ*, катализирующего О-зависимое гликозилирование, у данной группы больных возможно нарушение функций сигнального пути гексозамина и, как следствие, снижение энергетического метаболизма, роста клеток и их дифференцировки, а также синтеза гликопротеинов, которые данный ген контролирует [2, 19, 20]. Это также может способствовать избыточному накоплению УДФ-N-ацетилглюкозамина, который является высокоэнергетическим субстратом и ковалентно модифицирует различные белки путем добавления моносахарида (N-ацетилглюкозамина) в остатки серина или треонина. Это приводит к нарушению всей системы О-зависимого гликозилирования, контролирующего экспрессию многих генов, энергетический метаболизм, клеточную дифференцировку и организацию цитоскелета [2]. Не исключено, что в связи с избытком УДФ-N-ацетилглюкозамина больные данной подгруппы могут быть нечувствительны к препаратам, содержащим глюкозамин, который широко используется для лечения ОА [21].

Высокая экспрессия гена *mTOR* сопровождается повышенной экспрессией всех исследованных его ингибиторов и активаторов, поэтому трудно определить изначальную причину нарушения. Наиболее важно, что сходный характер координированной экспрессии некоторых из этих генов ранее наблюдался в исследованиях на животных и в культурах хондроцитов. Так, отмечалось, что при повышении экспрессии *ФИГ* усиливался опосредованный Fas апоптоз хондроцитов [22]. С другой стороны, повышение экспрессии генов у больных ОА данной подгруппы может иметь адаптивное значение в ответ на воспаление, которое также ранее наблюдалось у больных подгруппы HIGH [13], поскольку показано, что искусственное повышение экспрессии *ГФАТ* в культуре хондроцитов предотвращало потерю протеогликанов в ответ на действие интерлейкина 1β [23]. Однако данная подгруппа больных, кроме недостаточности АТФ (приводящей к чрезвычайно высокой активации экспрессии гена *АМПК*), также испытывает недостаток кислорода, необходимого для клеточных процессов, о чем свидетельствует сильное повышение экспрессии гена *ФИГ1 α* , индуцируемого гипоксией. Наши данные о повышении экспрессии *АМПК* согласуются с исследованиями *in vitro* с использованием культур хондроцитов человека, в которых усиление сигнального пути АМПК также сопровождалось активацией металлопротеиназ, разрушающих суставной хрящ [24]. Кроме того, отмечалось увеличение экспрессии *АМПК* в условиях гипоксии в культуре суставных хондроцитов свиньи [25].

Высокая экспрессия гена *ППГ6ФД*, которая может быть обусловлена повышенной концентрацией ее субстрата — глюкозо-6-фосфата — при высокой экспрессии гена *GLUT1* приводит к генерации НАДФН в эндоплазматической сети у больных подгруппы HIGH. НАДФН является кофактором для редуктазной активности 11β -оксистеро-

ид дегидрогеназы типа 1, которая переводит глюкокортикоиды в активное состояние (кортизол) и инициирует дифференцировку преадипоцитов, а в условиях избыточного питания — липогенез [26–28]. В связи с тем что при этом может происходить накопление активных стероидов, нельзя исключить, что больные данной подгруппы могут быть нечувствительны к лечению глюкокортикоидами.

Отличительной особенностью больных ОА на поздней стадии заболевания является значительное повышение экспрессии гена *СЖК*, продуктом которой является насыщенная пальмитиновая кислота [29]. Повышение экспрессии этого гена свидетельствует о нарушении липогенеза у таких пациентов [30, 31]. Пальмитат в клетках регулирует 162 гена, индуцирует апоптоз и старение многих типов клеток [32]. Кроме того, пальмитоирование мембранных белков блокирует пролиферативную активность клеток [33]. Возможно, именно это нарушение метаболизма является критическим для активного разрушения хряща, а также для развития болевого синдрома у больных ОА [16, 17] на поздней стадии заболевания. Эти данные также указывают на то, что повышение экспрессии *СЖК* может служить дополнительным диагностическим признаком ускоренного разрушения суставов у больных ОА.

Заключение

Таким образом, нами впервые исследованы изменения экспрессии генов главных метаболических путей, регулирующих активность сигнального пути *mTOR*, а именно: гликолиза, гипоксии, липогенеза, сигнального пути АМФ-активируемой протеинкиназы, пентозофосфатного и гексозаминового путей в крови больных ОА на разных стадиях заболевания. Наши исследования показали, что развитие ОА у всех исследованных групп больных сопровождается значительным снижением эффективности энергетического метаболизма. При этом у больных с низкой экспрессией гена *mTOR* недостаток энергии может быть связан с ослаблением транспорта метаболитов в клетки. У больных с высокой экспрессией *mTOR* он может быть обусловлен дефицитом конечного акцептора электронов — кислорода, а у больных на поздней стадии заболевания не исключено патологическое перераспределение энергетических субстратов в пользу липогенеза.

Полученные нами результаты могут быть использованы в клинической практике. Так, понижение уровня экспрессии гена *АГТ* может быть признаком резистентности к препаратам глюкозамина. Повышение экспрессии гена *СЖК* может служить дополнительным прогностическим признаком ускоренного разрушения сустава, а повышенная экспрессия гена *ППГ6ФД* может быть признаком резистентности к глюкокортикоидам. Кроме того, для восстановления функций и регуляции клеточного метаболизма при ОА могут быть эффективны нутрицевтики, поскольку у этих больных нарушено функционирование метаболических путей, которые являются сенсорами нутриентов.

Авторы благодарны сотрудникам хирургического отделения ФГБУ «НИИР» РАМН Марии Лисогоровой, Ольге Фалиной, Лидии Сычевой, Ирине Юденковой, Наталье Спиркиной и Елене Гусевой за помощь в выполнении данного исследования.

Работа осуществлена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 09-04-01158-а и 12-04-00038а).

ЛИТЕРАТУРА

- Henrotin Y., Lambert C., Couchourel D. et al. Nutraceuticals: do they represent a new era in the management of osteoarthritis? – A narrative review from the lessons taken with five products. *Osteoarthritis Cartilage* 2011;19:1–21.
- Marshall K.W., Zhang H., Nossova N. Chondrocyte genomics: implications for disease modification in osteoarthritis. *Drug Discov Today* 2006;11:825–32.
- Четина Е.В. Сигнальные пути нутриентов и ревматические заболевания. *Науч-практич ревматол* (в печати).
- Raught B., Gingras A.C., Sonenberg N. The target of rapamycin (TOR) proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;98:7037–44.
- Nicklin P., Bergman P., Zhang B. et al. Bidirectional transport of amino acids regulates mTOR and autophagy. *Cell* 2009;136:521–34.
- Sofer A., Lei K., Johannessen C.M. et al. Regulation of mTOR and cell growth in response to energy stress by REDD1. *Mol Cell Biol* 2005;25:5834–45.
- Hara K., Yonezawa K., Weng Q.P. et al. Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70 S6 kinase and eIF-4E BPI through a common effector mechanism. *J Biol Chem* 1998;273:14484–94.
- Мешлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке. М.: Мир, 1980.
- Love D.C., Hanover J.A. The hexosamine signaling pathway: Deciphering the O-GlcNAc code. *Sci. STKE* 2005;2005:re13.
- Smith S., Witkowski A., Joshi A.K. Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. *Prog Lipid Res* 2003;42:289–317.
- Kahn B.B., Alquier T., Carling D. et al. AMP-activated protein kinase: Ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab* 2005;1:15–25.
- Carling D. The AMP-activated protein kinase cascade, a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci* 2004;29:18–24.
- Четина Е.В., Братыгина Е.А., Зайцева Е.М. и др. Прогнозирование течения остеоартроза по экспрессии гена *mTOR* (mammalian target of rapamycin). *Науч-практич ревматол* 2012;1:27–32.
- Четина Е.В. Ингибирование активности расщепления коллагена в хряще больных остеоартрозом при активации гликолиза. *Остеопороз и остеопатии* 2011;1:8–12.
- Четина Е.В., Пул А.Р. Роль ростовых факторов в подавлении разрушения коллагена и дифференциации хондроцитов при остеоартрозе. *Вестн РАМН* 2008;5:15–21.
- Coggon D., Reading I., Croft P. et al. Knee osteoarthritis and obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:622–7.
- Bliddal H., Leeds A.R., Stigsgaard L. et al. Weight loss as treatment for knee osteoarthritis symptoms in obese patients: 1-year results from a randomised controlled trial. *Ann Rheum Dis* 2011;70:1798–803.
- Gwinn D.M., Shackelford D.B., Egan D.F. et al. AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol Cell* 2008;30:214–26.
- Ghosh S., Blumental H.J., Davidson E. et al. Glucosamine metabolism. V. Enzymatic synthesis of glucosamine 6-phosphate. *J Biol Chem* 1960;235:1265–73.
- Johnston I.R., McGuire E.J., Jourdain G.W. et al. Incorporation of N-acetyl-D-glucosamine into glycoproteins. *J Biol Chem* 1966;241:5735–7.
- Shikhman A.R., Brinson D.C., Valbracht J. et al. Differential metabolic effects of glucoseamine and N-acetylglucosamine in human articular chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 2009;17:1022–8.
- Ryu J.H., Shin Y., Huh Y.H. et al. Hypoxia-inducible factor-2 α regulates Fas-mediated chondrocyte apoptosis during osteoarthritic cartilage destruction. *Cell Death Differ* 2012;19:440–50.
- Gouze J.N., Gouze E., Palmer G.D. et al. Adenovirus-mediated gene transfer of glutamine: fructose-6-phosphate amidotransferase antagonizes the effect of interleukin-1 β on rat chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage* 2004;12:217–24.
- Tong K.M., Chen C.P., Huang K.C. et al. Adiponectin increases MMP-3 expression in human chondrocytes through AdipoR1 signaling pathway. *J Cell Biochem* 2011;112:1431–40.
- Fermor B., Gurumurthy A., Diekmann B.O. Hypoxia, ROS and energy metabolism in articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage* 2010;18:1167–73.
- Banhegyi G., Csala M., Benedetti A. Hexose-6-phosphate dehydrogenase: linking endocrinology and metabolism. *J Mol Endocrinol* 2009;42:283–9.
- Senesi S., Marcolongo P., Manini I. et al. Constant expression of hexose-6-phosphate dehydrogenase during differentiation of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *J Mol Endocrinol* 2008;41:125–33.
- Bujaska I.J., Hewitt K.N., Hauton D. et al. Lack of hexose-6-phosphate dehydrogenase impairs lipid mobilization from mouse adipose tissue. *Endocrinology* 2008;149:2584–91.
- Ford J.H. Saturated fatty acid metabolism is key link between cell division, cancer, and senescence in cellular and whole organism aging. *Age* 2010;32:231–7.
- Rumberger J.M., Wu T., Hering M.A. et al. Role of hexosamine biosynthesis in glucose-mediated up-regulation of lipogenic enzyme mRNA levels. *J Biol Chem* 2003;278:28547–52.
- McClain D.A., Hazel M., Parker G. et al. Adipocytes with increased hexosamine flux exhibit insulin resistance, increased glucose uptake, and increased synthesis and storage of lipid. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288:T973–T979.
- Swagell C.D., Henly D.C., Morris C.P. Expression analysis of a human hepatic cell line in response to palmitate. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328:432–41.
- Planey S.L., Keay S.K., Zhang C.O. et al. Palmitoylation of cytoskeleton associated protein 4 by DHHC2 regulates antiproliferative factor-mediated signaling. *Mol Biol Cell* 2009;20:1454–63.