

Сигнальные пути нутриентов и ревматические заболевания

Е.В. Четина

ФГБУ «Научно-исследовательский институт ревматологии им. В.А. Насоновой» РАМН, Москва

V.A. Nasonova 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 04.07.11

Нутриенты – глюкоза, аминокислоты, жирные кислоты и кислород – обычно рассматриваются как метаболическое топливо, используемое для производства высокоэнергетических молекул, таких как аденозинтрифосфат (АТФ) и никотинамиддинуклеотид (фосфат) восстановленный (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 выживание.

Сигнальные пути обычно состоят из двух компонентов: 1) сенсора, который определяет изменения поступления питательных веществ или понижение уровня АТФ, и 2) передающего элемента (обычно фермента), который ковалентно модифицирует регуляторные белки посредством фосфорилирования или O-зависимого гликозилирования [1]. В настоящее время идентифицировано несколько сигнальных путей, передающих сигналы от нутриентов (см. рисунок). Кроме того, недавно идентифицированы факторы, регулирующие эти пути, а также их функции и мишени.

Сигнальный путь mTOR

Система сигнального пути mTOR (mammalian target of rapamycin) – 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 их белка подтверждается тем, что функция и компоненты СПМТ одинаковы у всех эукариот – от дрожжей до млекопитающих.

Компоненты сигнального пути mTOR и их функции

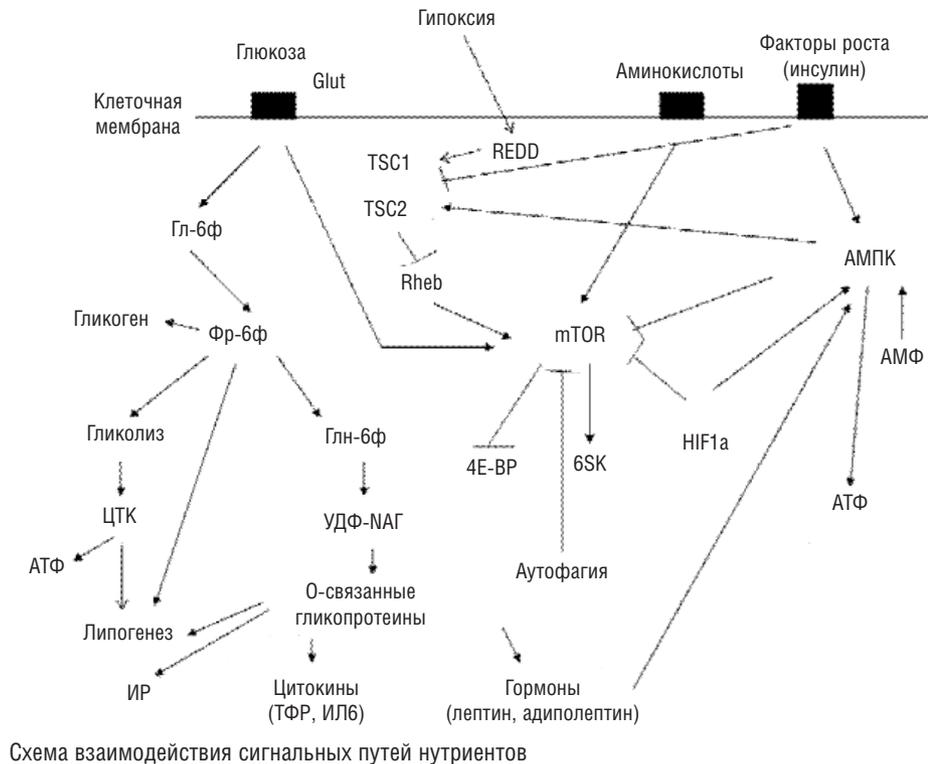
Первым компонентом СПМТ является TSC (tuberous sclerosis complex), который состоит из двух взаимодействующих белков,

образующих гетеродимерный комплекс [2–4]. Один из этих белков – TSC2 (или туберин) – функционирует как специфическая гуанозинтрифосфатаза (ГТФаза), активирующая белок (GAP), который ингибирует Rheb (член суперсемейства малых ГТФ-связывающих белков Ras). Второй белок – TSC1 (или гамартин) – не имеет очевидной каталитической активности, однако мутации в любом из них приводят к аутосомному доминантному нарушению, которое характеризуется развитием в различных тканях доброкачественных опухолей гамартом [5–8]. Поэтому белки TSC являются отрицательными регуляторами роста клеток – белками, подавляющими опухоли.

Кроме того, белки TSC получают информацию от инсулинового сигнального каскада и сигнального пути аденозинмонофосфат-активируемой протеинкиназы (АМПК). В частности, несколько киназ инсулинового сигнального пути ингибируют TSC2 путем его фосфорилирования и, следовательно, стимулируют биосинтез клеточного белка [9].

Rheb является непосредственной мишенью TSC и функционирует для активации mTOR киназы [4, 9]. Он способен превращаться в липофильный белок путем ферментативного присоединения группы фарнезила. Такая модификация Rheb необходима для его функционирования, поскольку ингибиторы фарнезил трансферазы могут блокировать опосредованную инсулином активацию сигнального пути mTOR [9, 10].

Центральным компонентом СПМТ является белок mTOR, который представлен относительно большой (290 кДа) серин-треонин киназой, которая содержит несколько регуляторных доменов [11–18]. Они включают каталитический домен, который связывает ассоциированный белок (GβL), FKBP12-рапамицин связывающий (FRB) домен, FAT (FRAP-ATM-TRAPP2) домен и малый FATC-домен, который, как предполагают, взаимодействует с FAT-доменами и влияет на киназную активность mTOR, облегчая межбелковые взаимодействия. Внутри N-терминальной части mTOR находится ряд повторов HEAT (элонгационного фактора 1A Хаттингтона), которые связывают цитоплазматические белки, такие как Раптор и Риктор, во взаимно исключающей манере. Когда Раптор связывается с mTOR, его киназная активность может блокироваться рапамицином и активироваться Rheb. При ак-



тивации комплекса mTOR–GβL–Раптор (mTORC1) фосфорилируются две последующие мишени: 4E-BP1 (связующий белок 1 эукариотического иницирующего фактора 4E) и S6K1/2 (S6 киназы 1 и 2). Это приводит к активации каскада, который регулирует биосинтез белка, биогенез рибосом и аутофагию [19–29]. Функции и регуляции комплекса mTOR–GβL–Риктор (mTORC2) исследованы не до конца, однако недавно показано, что этот комплекс участвует в организации актина [21] и опосредует фосфорилирование и активацию АКТ (серин-треонин протеинкиназа) [30]. Предполагается, что mTORC2 является отрицательным регулятором аутофагии, поскольку его ингибирование, опосредуемое FoxO3 (транскрипционный фактор семейства вилкоголовых подкласса O), индуцирует аутофагию и атрофию клеток скелетных мышц в условиях голодания [31, 32]. Пока неясно, регулируется ли комплекс mTOR–Риктор нутриентами и уровнями аденозинмонофосфата (АМФ), так же как комплекс mTOR–Раптор.

Регуляция сигнального пути mTOR

Регуляция СПМТ относительно сложна и включает множественные механизмы, такие как фосфорилирование (в случае белков TSC и mTOR), изменение локализации белка mTOR или регуляцию его активности путем связывания с дополнительными белками цитоплазмы (Раптор, Риктор или GβL). Более того, эти регуляторные механизмы находятся под контролем различных сенсоров (и сигнальных путей), которые определяют изменения в доступности нутриентов, вариации внутриклеточных уровней энергии (поступающие от сигнального пути АМПК) и изменения внешней среды (поступающие от гормонов – инсулина, лептина и адипонектина, которые связаны с поверхностными рецепторами). Поэтому СПМТ является общей мишенью для множественных сигналов от различных факторов внешней среды.

Положительные регуляторы mTOR

Аминокислоты

Активность mTOR регулируется разветвленными аминокислотами, в частности лейцином. Сигналы аминокислот передаются с помощью белков семейства малых ГТФаз RagA [33–36] и MAP4K3 (протеин киназа, активируемая митогенами) [37].

Пока не до конца понятно, как регулируются ГТФазы RagA и MAP4K3. Сигналы от аминокислот поступают с поверхности клеток при их первоначальном контакте. Поглощение аминокислот клеточной мембраной осуществляется группой мембранных транспортных белков, известных как семейство переносчиков растворимых (SLC) белков. Недавно показано, что поглощение клеткой L-глутамина с участием бидирекционного транспортного белка, который регулирует одновременный выброс глутамина и транспорт лейцина внутрь клетки, что необходимо для активации mTORC1 [38]. Кроме того, отмечалось, что потеря функциональной активности SLC1A5 ингибирует рост клеток и активирует аутофагию, возможно, вследствие ингибирования транспорта лейцина в клетку [39, 40].

Сигналы от ростовых факторов

Ростовые факторы регулируют mTORC1 путем передачи сигналов от инсулина/инсулиноподобного ростового фактора 1 (ИРФ1)–P13K (фосфоинозитид 3-киназа класса I)–Akt. Путь инсулина/ИРФ1 включает такие компоненты, как PDK1 (пируват дегидрогеназа киназа, изофермент 1) и Rheb, известные как положительные регуляторы mTORC1, а также PTEN и TSC2 – негативные регуляторы сигналов от mTORC1 [41, 42].

Глюкоза

Если аминокислоты и лейцин являются сигнальными молекулами, которые согласуют рост клеток с наличием клеточных строительных блоков, глюкоза может соотносить рост с энергетическим состоянием клетки [33, 34]. Важно, что сигнальные пути, регулируемые глюкозой

и лейцином, различаются, хотя оба координируются посредством mTORC1. Голодание по глюкозе уменьшает соотношение АТФ/АМФ в эукариотических клетках и активирует АМПК (5'-АМФ-активируемую протеин киназу) [43, 44]. При своем активировании АМПК ингибирует mTORC1 путем его фосфорилирования и активирования комплекса TSC2 – негативного регулятора mTORC1 [34].

Недавно показано, что АМПК может ингибировать mTORC1 независимо от TSC2 путем фосфорилирования белка Раптор в области серина 863 [45]. Следовательно, существует два пути, передающих сигналы от АМПК на mTORC1.

Третий зависимый от глюкозы путь включает глицеральдегид-3 фосфат дегидрогеназу (ГАФДГ), которая подавляет сигналы от Rheb (ras гомолога, присутствующего в мозге) к mTORC1 независимо от TSC1/2 при лимитировании по глюкозе [46]. Функционирование ГАФДГ-зависимого пути указывает на то, что именно поток глюкозы, а не энергетическое состояние является сигналом, регулирующим mTORC1.

Следовательно, глюкоза регулирует mTORC1 тремя разными путями. При этом путь АМПК–mTORC1 контролирует энергетический статус клетки в условиях стресса, тогда как путь ГАФДГ–mTORC1 регулирует метаболический статус клеточной глюкозы. При этом mTORC1 является общей мишенью для этих трех путей.

Негативные регуляторы mTOR

Сигнальный путь аутофагии

Голодание, стресс или недостаток факторов роста мобилизуют эукариотические клетки к выживанию в неблагоприятных условиях. При этом первоначально происходит ингибирование роста клеток и индукция аутофагии.

Аутофагия представляет собой процесс, посредством которого клетки обновляют свою цитоплазму, избавляясь от избыточных или дефектных органелл и/или переваривают их в качестве дополнительного источника энергии [47, 48]. При этом происходит формирование окруженных двойной мембраной везикул (аутофагосом), которые ограничивают часть цитоплазмы или органеллы. Далее при слиянии этих везикул с вакуолей формируется аутофаголизосома, содержащая собственные лизосомальные ферменты, активные при низких значениях pH, которые расщепляют захваченный цитоплазматический материал [49].

В эукариотических клетках сформировался механизм, посредством которого индукция аутофагии тесно связана с регуляцией клеточного роста, а mTOR является ключевым компонентом, который координирует и регулирует равновесие между ростом и аутофагией в ответ на изменение физиологических условий в клетке или внешний стресс.

Первым сигнальным компонентом сигнального пути аутофагии (СПА), принимающим сигналы mTOR, является белок ATG1 – консервативная серин/треонин киназа, впервые описанная в дрожжах. ATG1 играет ключевую роль на начальных стадиях индукции аутофагии – нуклеации (инициации мембранных структур) и формировании пре-аутофагосомы [50–52]. При этом ингибирование mTOR путем лимитирования нутриентов или рапамицином усиливает киназную активность ATG1 [53].

У млекопитающих компонент, соответствующий ATG1, называется ULK1 (UNC51-подобная киназа). ULK1-3 активируется на ранних этапах нуклеации при формировании аутофагосомы [54–58]. Процесс нуклеации

включает формирование мембранного компартмента, обогащенного PI(3)P (фосфоинозитолкиназа 3), который формируется из мембран эндоплазматической сети (ЭПС) в ответ на голодание по аминокислотам [59, 60]. В этом процессе участвует также белковый комплекс, содержащий белок Beclin1 [48, 61, 62].

Регуляция аутофагии

Аутофагальный комплекс находится под контролем mTORC1. При этом ростовые факторы, которые активируют mTORC1 и компоненты сигнального пути инсулина/ИРФ1–PI3K–Akt, ингибируют индукцию аутофагии.

Кроме того, механизм аутофагии может запускаться при окислительном стрессе, также при участии mTORC1. Известно, что mTORC1 локализуется вблизи митохондрий и ингибируется при окислительном стрессе или дисфункции митохондрий. Поэтому mTORC1 может участвовать в индукции аутофагии при повреждении митохондрий [20, 63]. В частности, показано, что при окислительном стрессе в клетках млекопитающих сигналы от пути LKB1–АМПК–TSC1/2 могут ингибировать mTORC1 и активировать продукцию генов ATG [44].

Другим индуктором аутофагии является PI3KIII (фосфоинозитид 3-киназа класса III) – консервативная липидная киназа эукариот. Аналогичная киназа в дрожжах регулирует аутофагию на ранних этапах ее индукции путем аккумуляции фосфатидил-инозитол-3-фосфата (PI(3)P) [64] и также передает сигналы на mTORC1 [65, 66].

Механизм регуляции фосфорилирования комплекса ULK посредством mTOR

Показано, что TORC1 может фосфорилировать белки ATG13 и UGL1/2. При этом ингибирование mTORC1 рапамицином или голоданием, индуцирующими аутофагию, приводит к дефосфорилированию белков ULK 1/2 и ATG13 [57, 67, 68].

Хотя сигналы голодания не всегда опосредуются mTORC1 и, возможно, некоторые комплексы ULK регулируются независимо от mTORC1 [69–71], считается, что комплексы mTORC1 и Atg1/ULK являются ключевыми. Это подтверждается тем, что активация генов ATG1/ULK может подавлять TORC1 и рост некоторых типов клеток человека [57, 72, 73].

Сигнальный путь АМПК

Хотя главная функция СПМТ состоит в оценке доступности аминокислот и глюкозы для синтеза белка и роста клеток, эти процессы нуждаются в достаточном количестве энергии. Информация о доступности внутриклеточных запасов энергии поступает к СПМТ от сигнального пути АМПК.

АМПК является гетеротримерной серин-треонин киназой, которая активируется при недостатке внутриклеточной энергии и стимулирует катаболические пути для генерации АТФ и одновременно ингибирует анаболические пути синтеза макромолекул (белков, жирных кислот, липидов, холестерина и гликогена) [68, 74–79]. В результате происходит восполнение уровня АТФ и восстановление гомеостаза энергии.

Один из механизмов оценки запасов клеточной энергии включает аллостерическую активацию киназной активности АМПК. В условиях, когда потребности в энергии увеличиваются (при усилении работы клетки или стрессе) или когда доступность нутриентов уменьшается (при уменьшении притока глюкозы), внутриклеточ-

ные уровни АТФ снижаются, а АМФ — увеличиваются. АМФ затем аллостерически активирует АМПК и запускает каскад фосфорилирования, который регулирует активность различных последующих мишеней, включая факторы транскрипции, ферменты и другие регуляторные белки. По крайней мере две мишени АМПК находятся внутри СПМТ (TSC2 и mTOR). АМПК активирует комплекс TSC2–TSC1, ингибирует mTOR и активирует аутофагию у млекопитающих [45]. Фосфорилирование этих мишеней необходимо для восстановления уровня АТФ путем замедления энергозависимого процесса синтеза белка и роста клеток.

Кроме аллостерической активации, активность АМПК может регулироваться по механизму, включающему ковалентную модификацию через добавление фосфатной группы. Важно отметить, что каждый механизм интерактивен и жестко интегрирован в общую регуляцию киназной активности. Например, лептин и адипонектин являются двумя гормонами, которые регулируют состояние фосфорилирования АМПК путем связывания с клеточными рецепторами или при инициации опосредованного рецепторами каскада трансдукции [80–83]. Другой путь регуляции АМПК состоит в активации серин-треонин киназы LKB1 [77, 84–86]. Комплекс LKB1 функционирует как супрессор опухолей [87–89]. Хотя АМПК считается мишенью LKB1, известно, что LKB1 может фосфорилировать и другие белки-мишени, которые контролируют энергетический метаболизм, ремоделирование хроматина, арест клеточного цикла, поляриность клеток и сигнальный путь Wnt [87, 90–93].

Сигнальный путь гипоксии

Гипоксия регулирует mTORC1 с помощью белков REDD1 и -2 (регулируемые при эмбриогенезе и при повреждении ДНК) [94]. REDD1 способен ингибировать mTORC1 через комплексы TSC1–TSC2.

Хотя клетки реагируют на изменение концентрации всех нутриентов, чувствительность к кислороду является центральным контрольным механизмом васкулогенеза [95, 96]. В центре этой регуляторной системы находится транскрипционный фактор HIF [97, 98], который контролирует также экспрессию ключевых ангиогенных факторов — VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста) [99] и ангиопоэтина 2 (Ang-2) [100], обеспечивая активацию ангиогенеза.

При этом HIF и гипоксия являются негативными регуляторами mTOR, поскольку, во-первых, увеличивают концентрацию АМФ с последующей активацией АМПК [101], а во-вторых, индуцируют REDD1, активирующий комплекс TSC и ингибирующий mTOR [102, 103]. Кроме того, ограничение по нутриентам и гипоксия способны активировать аутофагию, которая также реципрокно ингибирует активность mTOR [72, 104–106].

Поскольку HIF-1 играет ключевую роль в энергетическом метаболизме, его подавление в лимфоцитах приводит к тяжелому иммунодефициту [107–109].

Сигнальный путь гексозамина

Сигнальный путь гексозамина (СПГ) является дополнительным сенсором глюкозы и ответствен за перераспределение ее избытка на процессы либо генерации энергии в виде АТФ, либо запасания ее путем преобразования в жиры и/или гликоген. Кроме того, СПГ связывают с раз-

витием инсулинорезистентности (ИР) и синтезом гормонов лептина и адипонектина, которые, активируя АМПК, способны блокировать функции СПМТ.

Первым лимитирующим скоростью ферментом СПГ является глутамин: глюкозо-6Ф-амидотрансфераза (ГФАТ). Для этого растворимого фермента глутамин служит донором аминокислоты для превращения фруктозо-6-фосфата в глюкозамин-6-фосфат (ГА-6Ф). В гипергликемических условиях ГА-6Ф быстро превращается в уридин-5-дифосфат (УДФ) ацетилглюкозамина, высоко энергетический субстрат, используемый для ковалентной модификации различных белков посредством добавления моносахарида (ацетилглюкозамина) в остатки серина и треонина.

Другим компонентом СПГ является фермент, катализирующий O-зависимое гликозилирование — УДФ-N-ацетилглюкозаминил трансфераза (АГАТ). Многие цитоплазматические и ядерные белки являются субстратами для O-зависимого гликозилирования, они включают большинство факторов транскрипции, несколько онкогенов, ферменты, компоненты сигнальных путей, а также многочисленные цитоскелетные и структурные белки [110, 111]. Анализ функций этих белков свидетельствует о том, что O-зависимое гликозилирование контролирует экспрессию генов, энергетический метаболизм, рост клеток, их дифференцировку и организацию цитоскелета. Например, повышение уровня УДФ-N-ацетилглюкозамина (M-25) усиливает гликозилирование транскрипционных факторов — регуляторов экспрессии белков инсулин-зависимой системы транспорта глюкозы. В частности, показана связь между O-зависимым гликозилированием и индукцией инсулиновой зависимости [112–115].

Кроме контроля метаболизма глюкозы усиленный поток через СПГ увеличивает синтез триглицеридов путем повышения экспрессии липогенных ферментов, таких как ацетил-CoA-карбоксилаза, синтаза жирных кислот и глицерин-3-фосфат дегидрогеназа [116, 117]. Следовательно, СПГ также регулирует липидный метаболизм. Третьим следствием усиленного потока гексозамина является увеличение скорости биосинтеза гликогена, однако в этом случае действие гексозамина опосредуется внутриклеточной аккумуляцией глюкозамин-N-6-фосфата и аллостерической активацией гликоген синтазы [118]. Следовательно, повышенный поток через СПГ приводит к усилению O-зависимого гликозилирования различных регуляторных белков в ответ на избыток глюкозы. Таким образом, общее поглощение глюкозы снижается (вследствие развития ИР), а избыток поступающей глюкозы запасается в виде триглицеридов (путем усиления липогенеза) и гликогена.

ИР характеризуется неспособностью инсулина стимулировать нормальное поглощение глюкозы в мышечную и жировую ткани [112]. Она может развиваться в результате избыточной доставки нутриентов в клетки, причем в экспериментальных условиях ее можно индуцировать глюкозой в течение нескольких часов [119–123]. В частности, ИР характеризуется обратимым уменьшением инсулин-зависимого включения белка — транспортера глюкозы GLUT4 в клеточную мембрану, которое отменялось тропглатазоном (антидиабетическим препаратом) [121]. Следовательно, ИР является протективным механизмом (в частности, для мышечной ткани) от избытка нутриентов и способствует переброске избытка калорий на хране-

ние в жир [120]. Поэтому ИР является следствием передачи и может развиться задолго до непереносимости глюкозы или диабета [124].

Ранее было предложено несколько возможных механизмов ИР, которые связаны с активностью СПГ: увеличение образования протеогликанов, биосинтез гликозил-фосфатидил-инозитола, гликозилирование липидов, комплексное N-зависимое гликозилирование и усиление модификации белков посредством O-N-ацетилглюкозамина [125].

Однако недавно доказано, что поток глюкозы через гексозаминовый путь может служить механизмом, определяющим концентрации нутриентов и ответствен за индуцированную глюкозой ИР [123, 126, 127]. Например, активация сверхпродукции фермента, лимитирующего скорость синтеза гексозамина (ГФАТ), в мышцах и жировой ткани трансгенных мышей приводило к ИР [128]. Напротив, при ограничении калорийности происходило уменьшение концентрации УДФ-N-ацетил-глюкозамина в мышцах, что улучшало чувствительность к инсулину [129]. Кроме того, глюкоза способна повышать экспрессию гена тучности (*ob*) через гексозаминовый путь, что ведет к повышенной экспрессии лептина [130, 131]. Поэтому ИР, вызванная свободными жирными кислотами, также, вероятно, регулируется гексозаминовым путем [132].

Пока не до конца ясен механизм контроля нутриентами или регуляции передачи сигнала продуктами СПГ. Однако показано, что сверхпродукция АГАТ под контролем Glut4-промотора индуцирует ИР (гиперинсулинемию) и гиперлептинемия [112]. Кроме того, известно, что инсулин увеличивает синтез и секрецию лептина по типу, зависящему от СПГ [130, 131, 133–136]. Поэтому АГАТ, видимо, является конечной ступенью в сигнальном пути гексозамина, а передача сигнала происходит путем модификации многочисленных целевых белков O-N-ацетил-глюкозамином по типу фосфорилирования, причем предшествующие компоненты этого пути строго регулируются. Например, ГФАТ млекопитающих ингибируется по типу обратной связи посредством УДФ-N-ацетил-глюкозамина так, что уровень этого метаболита находится под жестким метаболическим контролем.

Существование внутриклеточного O-связанного N-ацетил-глюкозамина обнаружено недавно [137–139]. При этом оказалось, что многочисленные белки ядерной мембраны, компоненты транскрипционной системы и сигнальные белки несут остатки N-ацетил-глюкозамина [140–143], а O-зависимое гликозилирование идеально подходит на роль сенсора нутриентов — глюкозы [144], липидов и аминокислот (в частности, глутамина) [132]. Следовательно, АГАТ играет центральную роль в инсулиновых и лептиновых сигнальных каскадах.

Глюкозамин, который входит в СПГ после ГФАТ, замещает глюкозу, опосредуя десенситизацию адипоцитов и скелетных мышц на поглощение глюкозы под действием инсулина *in vitro* [145], а *in vivo* глюкозамин используется как индуктор ИР [146, 147]. Так, инфузия глюкозамина увеличивала уровни УДФ-N-ацетил-глюкозамина в мышцах и индуцировала ИР в нормоглициемических крысах. При этом ингибиторы ГФАТ (азасерин) реверсировали ИР, индуцированную гипергликемией, но не глюкозамином [113].

Инсулин является мощным активатором mTOR. Однако продолжительная активация mTOR вследствие гиперинсулинемии, которая сопровождается хроническим избытком нутриентов и тучностью, может привести к развитию ИР [148]. При этом инсулин стимулирует собственный трансмембранный тирозин-киназный рецептор, что приводит к фосфорилированию тирозина, его главного субстрата IRS1 (субстрата инсулинового рецептора), который контролирует все последующие сигнальные пути. Одним из механизмов развития ИР является снижение фосфорилирования тирозина в IRS1, которое сопровождается усилением фосфорилирования серина несколькими серин/треонин киназами, включая mTOR, а также ERK, JNK и IKKbeta [149]. Именно это происходит при длительном действии инсулина [150].

Нарушение функций сигнального пути mTOR при некоторых ревматических заболеваниях

В настоящее время известно, что регуляция СПМТ нарушена при различных заболеваниях, в том числе ревматических. Исследования конкордантности между СПМТ и генами, ассоциированными с 87 заболеваниями человека, показали наиболее строгую положительную ассоциацию между СПМТ и СКВ, а также двумя формами рака (яичников и поджелудочной железы; $p=10^{-8}$) [151]. Достоверная ассоциация ($p<0,01$) была также выявлена между СПМТ и диабетом, ожирением, болезнью Альцгеймера, множественным склерозом и артритами ($p=10^{-3}$).

Ревматоидный артрит

Исследования на животных показали, что ингибирование mTOR подавляет индуцированную митогенами пролиферацию T- и B-лимфоцитов и сокращает продукцию интерлейкина 1 (ИЛ1) и фактора некроза опухоли α (ФНС α) [152, 153]. Кроме того, доклинические исследования свидетельствуют о том, что блокирование mTOR приводит к уменьшению размеров припухлости конечностей у грызунов и синовита при индуцировании артрита антигенами [154, 155].

Активность СПМТ обнаружена в синовиальной мембране больных ревматоидным артритом (РА), в частности в синовиальных остеокластах [155]. А пролиферация синовиальных фибробластов, индуцированная тромбоцитарным ростовым фактором, у больных РА подавлялась при ингибировании mTOR рапамицином. При этом одновременно повышалась чувствительность этих клеток к апоптозу [156].

Кроме того, оказалось, что mTOR способен регулировать инвазивные свойства синовиальных фибробластов при РА [157]. Так, ингибирование mTOR рапамицином на животных моделях подавляло инвазивность синовиоцитов и препятствовало возникновению эрозий кости и потере хряща [154, 157]. Другой ингибитор mTOR, эверолимус, значительно снижал активность заболевания у больных РА [158], а компоненты СПМТ участвовали в реактивации РА после беременности [159].

Активность СПМТ реципрокно связана с механизмом аутофагии. Хотя роль аутофагии при РА практически не изучена, действие одного из модифицирующих заболевание антиревматических препаратов — хлорохина — основано на ингибировании аутофагии и усилении апоптоза [160]. Кроме того, показано, что индукция аутофагии в синовиальных фибробластах при РА усиливает устойчивость этих клеток к гибели посредством апоптоза [161].

Недавно в наших исследованиях выявлена гетерогенность по экспрессии гена *mTOR* в крови первичных больных РА. При этом у больных РА с пониженной экспрессией гена *mTOR* по сравнению со здоровыми лицами отмечены более высокие уровни ревматоидного фактора, а повышенная экспрессия этого гена сопряжена с максимальными уровнями экспрессии цитокинов ФНО α и ИЛ6 [162]. Более того, все исследованные больные РА на поздней стадии заболевания перед эндопротезированием коленного сустава также имели повышенные уровни экспрессии гена *mTOR* как в крови, так и в суставном хряще [163]. Следовательно, уровни экспрессии гена *mTOR* в крови больных РА могут свидетельствовать о степени разрушения сустава и служить прогностическим маркером дальнейшего течения заболевания.

Мы также отмечали, что терапия больных РА синтетическими базисными противовоспалительными препаратами и генно-инженерными биологическими препаратами приводит к значительному изменению экспрессии гена *mTOR* в крови и, следовательно, этот показатель может использоваться для контроля эффективности терапии (Е.В. Четина, Е.Л. Насонов, неопубликованные данные).

Остеоартроз

Роль СПМТ при остеоартрозе (ОА) практически не исследована. Однако среди больных ОА нами также была обнаружена гетерогенность по экспрессии гена *mTOR* в крови. При этом пониженная экспрессия этого гена сопровождалась более сильной болью при ходьбе, а повышенная — более высокой экспрессией провоспалительного цитокина ФНО α и синовитом. У всех больных на поздней стадии перед эндопротезированием коленного сустава экспрессия *mTOR* была высокой [164]. Поэтому повышенные уровни экспрессии гена *mTOR* в крови больных ОА на ранней стадии заболевания могут служить прогностическим маркером тяжести заболевания и разрушения суставного хряща.

Кроме того, косвенные данные об участии СПМТ в блокировании апоптозной активности в хондроцитах больных ОА недавно были получены при изучении роли гена *Sirt1* (НАД-зависимой гистоновой диацетилазы) в хондроцитах больных ОА [165]. *Sirt1* повышал жизнеспособность хондроцитов у больных ОА путем активации рецептора инсулинового ростового фактора, который, как отмечалось выше, способен активировать *mTOR* [41, 42]. Это также сопровождалось подавлением их апоптозной активности [165]. Вместе с тем гиперактивация *mTOR* снижала активность сигналов от субстратов инсулиновых рецепторов [148].

Остеопороз

СПМТ, вероятно, необходим для регуляции метаболических процессов у больных остеопорозом (ОП), поскольку он может непосредственно способствовать образованию активных остеокластов. В частности, колониестимулирующий фактор макрофагов (КСФМ) подавляет экспрессию проапоптозного белка *Bim* посредством активации *mTOR* в предшественниках остеокластов. Напротив, связывание белка *mTOR* методом РНК-интерференции индуцировало апоптоз в тех же клетках [166]. Также важно отметить, что сигнальные пути нескольких остеокластогенных факторов, таких как КСФМ, RANKL (лиганд рецепторного активатора ядерного фактора каппа В) и ФНО β , могут активировать *mTOR* как общую мишень, что следует из ингибирования фосфорилирования белка

S6, S6-киназы и 4E-BP1 в остеокластах ингибитором *mTOR* сиролимусом [167]. При этом ингибирование *mTOR* сиролимусом или рапамицином снижало скорость формирования синовиальных остеокластов, индуцировало их апоптоз и подавляло резорбцию кости и хряща в экспериментах *in vitro* [155, 157, 167]. В опытах на животных было показано, что другой ингибитор *mTOR*, эверолимус, также способен подавлять активность остеокластов, ингибируя экспрессию катепсина К — протеазы, ответственной за потерю костной ткани, индуцированную овариэктомией [168].

Кроме того, наши исследования показали значительное снижение экспрессии *mTOR* в крови первичных больных ОП по сравнению со здоровыми лицами [169]. Положительная корреляция экспрессии *mTOR* с минеральной плотностью костной ткани (МПКТ) в области большого вертела также подтверждает его участие в резорбции кости при ОП. Это предположение согласуется с результатами исследований на животных, которые свидетельствуют о повышении активности СПМТ при усилении костеобразования у крыс [170]. Напротив, длительное назначение животным ингибитора *mTOR* FK506 приводило к развитию ОП [171]. Это сопровождалось подавлением экспрессии *Runx2* [172]. Наконец, использование FK506 при иммуносупрессорной терапии людей также сопровождалось тяжелой потерей костной ткани и переломами у 65% пациентов [173, 174].

Системная красная волчанка

Хотя точные причины активации Т-, В-лимфоцитов, дендритных клеток (ДК) и макрофагов неясны, имеются доказательства, что активация *mTOR* играет центральную роль в дисфункции лимфоцитов при системной красной волчанке (СКВ), а сам *mTOR* рассматривается как новый общий биомаркер дисфункции Т- и В-лимфоцитов при этом заболевании [175–178]. Это предполагается, поскольку ингибитор *mTOR* рапамицин оказался очень эффективен для нормализации функционирования Т-лимфоцитов при СКВ. При этом сокращались пролиферация клеток, продукция ИЛ2, образование антител против двуспиральной ДНК, уровни альбумина в моче и гломерулонефрит, а также увеличивалась выживаемость больных СКВ мышей [179]. Кроме того, у мышей найдена корреляция между снижением экспрессии многих генов в результате терапии сиролимусом и клиническими признаками нефрита [151].

При этом, хотя экспрессия *mTOR* была одинаковой в Т-лимфоцитах больных СКВ и здоровых лиц, уровень фосфорилирования двух ключевых субстратов *mTOR* — S6K1 и 4E-BP1 — оказался значительно повышен, при этом он снижался при терапии рапамицином [175]. Более того, аутофагия, индуцируемая рапамицином вследствие инактивации *mTOR*, приводила к обширной деградации содержимого цитоплазмы, белков и органелл, включая митохондрии, в лизосомах Т-лимфоцитов [180].

Однако *in vivo* рапамицин не влиял на гиперполяризацию митохондрий или их количество в клетках больных СКВ [181]. Поскольку *mTOR* локализуется на внешней мембране митохондрий и служит сенсором митохондриального трансмембранного потенциала [63], он, вероятно, активируется вследствие персистентной гиперполяризации митохондрий, наблюдаемой при СКВ [176, 178].

Более того, ингибирование СПМТ приводило к подавлению активности других многочисленных сигнальных

путей, таких как ERK1/2, NFκB, BCL2, CDK2, и STAT3, активность которых превышала норму у мышей, больных СКВ [182].

Системный склероз

Повышенная экспрессия фосфорилированной формы mTOR наблюдалась в клубочках большого склеродермией с тяжелой формой протеинурии [183].

Исследования на животных показали, что в модельных системах системного склероза у мышей фиброз кожи и легких сопровождался повышенной экспрессией mTOR. Напротив, при ингибировании mTOR рапамицином наблюдали снижение фиброза легких [184], которое сопровождалось снижением продукции фиброгенных цитокинов (ИЛ4, ИЛ6 и ИЛ17), трансформирующего фактора роста (ТФР) β1, антител к топоизомеразе I и гипергаммаглобулинемией. При этом рапамицин ингибировал пролиферацию и продукцию коллагена в зависимости от дозы [185]. В клинических исследованиях показано, что рапамицин также был эффективен и улучшал клинические признаки у больных системным склерозом [186–187].

Васкулит

Хотя детальных исследований изменения функции mTOR при васкулите не проводили, доклинические исследования на животных показали, что использование ингибитора mTOR сиролимуса в трансплантологии значительно продлевало «выживание» трансплантатов органов, однако при этом происходило развитие кишечного васкулита [189]. Кроме того, развитие васкулита кожи и кишечника наблюдали у 4 больных с гематологическими опухолями при их лечении эверолимусом [190].

Заключение

Нутриенты играют активную роль в регуляции метаболизма. Они во многом напоминают гормоны, поскольку циркулируют в крови, их уровни варьируют в зависимости от физиологических условий (состояние насыщения или

голодания), они связываются с белками клеточной поверхности перед их поглощением или участвуют в изменении путей передачи сигнала внутри клеток.

Различные сигнальные пути нутриентов тесно взаимосвязаны (см. рисунок). Например, сигнальный путь АМПК связан с СПМТ, поскольку АМПК способна ингибировать сигналы mTOR (путем фосфорилирования TSC и mTOR). Поэтому энергия, направляемая на синтез белка, сокращается, если уровни клеточной энергии низки. Кроме того, существуют множественные связи между сигнальными путями гексозамина и АМПК.

Поскольку поглощение глюкозы играет главную роль в генерации АТФ, изменения в уровне поглощения глюкозы должны влиять на передачу сигнала через сигнальный путь АМПК. На гормональном уровне гексозаминовый сигнальный путь контролирует синтез и высвобождение лептина и адипонектина в печени, мышцах и жировой ткани. Когда эти два гормона поступают в кровь, они влияют на энергетический метаболизм, непосредственно регулируя активность АМПК.

Следовательно, существует обширная «метаболическая регуляторная сеть», которая реагирует на изменение доступности нутриентов для энергетического метаболизма на уровне как клетки, так и всего организма и затем координированно регулирует энергетический гомеостаз организма в целом для обеспечения жизненно важных органов и тканей достаточным количеством энергии для выполнения базовых и специфических метаболических функций, необходимых для выживания организма.

В результате этого создается унифицированная инфраструктура, с помощью которой можно объяснить, как избыток/недостаток нутриентов и/или дефекты их сигнальных путей влияют на патогенез различных заболеваний, в том числе и ревматических.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Marshall S. Role of insulin, adipocyte hormones, and nutrient-sensing pathways in regulating fuel metabolism and energy homeostasis: a nutritional perspective of diabetes, obesity, and cancer. *Sci STKE* 2006;2006(346):re7.
2. Jozwiak J. Hamartin and tuberlin: Working together for tumor suppression. *Int J Cancer* 2006;118:1–5.
3. Astrinidis A., Henske E.P. Tuberous sclerosis complex: Linking growth and energy signaling pathways with human disease. *Oncogene* 2005;24:7475–81.
4. Manning B.D., Cantley L.C., Rheb fills a GAP between TSC and TOR. *Trends Biochem Sci* 2003;28:573–6.
5. Shamji A.F., Nghiem P., Schreiber S.L. Integration of growth factor and nutrient signaling: Implications for cancer biology. *Mol Cell* 2003;12:271–80.
6. Gingras A.C., Kennedy S.G., O'Leary M.A. et al. 4EBP1, a repressor of mRNA translation, is phosphorylated and inactivated by the Akt(PKB) signaling pathway. *Genes Dev* 1998;12:502–13.
7. Guertin D.A., Sabatini D.M. An expanding role for mTOR in cancer. *Trends Mol Med* 2005;11:353–61.
8. Fingar D.C., Blenis J. Target of rapamycin (TOR): An integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene* 2004;23:3151–71.
9. Aspuria P.J., Tamanoi F. The Rheb family of GTP-binding proteins. *Cell Signal* 2004;16:1105–12.
10. Takahashi K., Nakagawa M., Young S.G. et al. Differential membrane localization of ERas and Rheb, two Ras-related proteins involved in the phosphatidylinositol 3-kinase/mTOR pathway. *J Biol Chem* 2005;280:32768–74.
11. Inoki K., Ouyang H., Li Y. et al. Signaling by target of rapamycin proteins in cell growth control. *Microbiol Mol Biol Rev* 2005;69:79–100.
12. Martin D.E., Hall M.N. The expanding TOR signaling network. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:158–66.
13. Harris T.E., Lawrence J.C. TOR signaling. *Sci STKE* 2003;2003:re15.
14. Soliman G.A. The mammalian target of rapamycin signaling network and gene regulation. *Curr Opin Lipidol* 2005;16:317–23.
15. Avruch J., Lin Y, Long X. et al. Recent advances in the regulation of the TOR pathway by insulin and nutrients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005;8:67–72.
16. Sarbassov D.D., Ali S.M., Sabatini D.M. Growing roles for the mTOR pathway. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:596–603.
17. Hay N., Sonenberg N. Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev* 2004;18:1926–45.
18. Tee A.R., Blenis J. mTOR, translational control and human disease. *Semin Cell Dev Biol* 2005;16:29–37.
19. Hara K., Maruki Y., Long X. et al. Raptor, a binding partner of target of rapamycin (TOR), mediates TOR action. *Cell* 2002;110:177–89.
20. Kim D.H., Sarbassov D.D., Ali S.M. et al. mTOR interacts with

- raptor to form a nutrient-sensitive complex that signals to the cell growth machinery. *Cell* 2002;110:163–75.
21. Sarbassov D.D., Ali S.M., Kim D.H. et al. Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. *Curr Biol* 2004;14:1296–302.
 22. Jacinto E., Facchinetti V., Liu D. et al. SIN1/MIP1 maintains rictor-mTOR complex integrity and regulates Akt phosphorylation and substrate specificity. *Cell* 2006;127:125–37.
 23. Vander Haar E., Lee S.I., Bandhakavi S. et al. Insulin signalling to mTOR mediated by the Akt/PKB substrate PRAS40. *Nat Cell Biol* 2007;9:316–23.
 24. Pearce L.R., Huang X., Boudeau J. et al. Identification of raptor as a novel rictor-binding component of mTOR complex-2. *Biochem J* 2007;405:513–22.
 25. Woo S.Y., Kim D.H., Jun C.B. et al. PRR5, a novel component of mTOR complex 2, regulates platelet-derived growth factor receptor beta expression and signaling. *J Biol Chem* 2007;282:25604–12.
 26. Peterson T.R., Laplante M., Thoreen C.C. et al. DEPTOR is an mTOR inhibitor frequently overexpressed in multiple myeloma cells and required for their survival. *Cell* 2009;137:873–86.
 27. Sarbassov D.D., Guertin D.A., Ali S.M. et al. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science* 2005;307:1098–101.
 28. Sarbassov D.D., Ali S.M., Sengupta S. et al. Prolonged rapamycin treatment inhibits mTORC2 assembly and Akt/PKB. *Mol Cell* 2006;22:159–68.
 29. Garcia-Martinez J.M., Alessi D.R. mTOR complex 2 (mTORC2) controls hydrophobic motif phosphorylation and activation of serum- and glucocorticoid-induced protein kinase 1 (SGK1). *Biochem J* 2008;416:3753–85.
 30. Hresko R.C., Mueckler M. mTOR.RICTOR is the Ser473 kinase for Akt/protein kinase B in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem* 2005;280:40406–16.
 31. Mammucari C., Milan G., Romanello V. et al. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metab* 2007;6:458–71.
 32. Zhao J., Brault J.J., Schild A. et al. FoxO3 coordinately activates protein degradation by the autophagic/lysosomal and proteasomal pathways in atrophying muscle cells. *Cell Metab* 2007;6:472–83.
 33. Hara K., Yonezawa K., Weng Q.P. et al. Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70 S6 kinase and eIF-4E BP1 through a common effector mechanism. *J Biol Chem* 1998;273:14484–94.
 34. Inoki K., Zhu T., Guan K.L. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell* 2003;115:577–90.
 35. Kim E., Guan K.L. RAG GTPases in nutrient-mediated TOR signaling pathway. *Cell Cycle* 2009;8:1014–18.
 36. Sancak Y., Peterson T.R., Shaul Y.D. et al. The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science* 2008;320:1496–501.
 37. Findlay G.M., Yan L., Procter J. et al. A MAP4 kinase related to Ste20 is a nutrient-sensitive regulator of mTOR signalling. *Biochem J* 2007;403:13–20.
 38. Nicklin P., Bergman P., Zhang B. et al. Bidirectional transport of amino acids regulates mTOR and autophagy. *Cell* 2009;136:521–34.
 39. Dubouloz F., Deloche O., Wanke V. et al. The TOR and EGO protein complexes orchestrate microautophagy in yeast. *Mol Cell* 2005;19:15–26.
 40. Chen E.J., Kaiser C.A. Amino acids regulate the intracellular trafficking of the general amino acid permease of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:14837–42.
 41. Manning B.D., Tee A.R., Logsdon M.N. et al. Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberlin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway. *Mol Cell* 2002;10:151–62.
 42. Inoki K., Li Y., Zhu T. et al. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 2002;4:648–57.
 43. Corradetti M.N., Inoki K., Bardeesy N. et al. Regulation of the TSC pathway by LKB1: evidence of a molecular link between tuberous sclerosis complex and Peutz-Jeghers syndrome. *Genes Dev* 2004;18:1533–8.
 44. Shaw R.J., Bardeesy N., Manning B.D. et al. The LKB1 tumor suppressor negatively regulates mTOR signaling. *Cancer Cell* 2004;6:91–9.
 45. 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.
 46. Lee M.N., Ha S.H., Kim J. et al. Glycolytic flux signals to mTOR through glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-mediated regulation of Rheb. *Mol Cell Biol* 2009;29:3991–4001.
 47. Shintani T., Klionsky D.J. Autophagy in health and disease: a double-edged sword. *Science* 2004;306:990–5.
 48. Lum J.J., de Berardinis R.J., Thompson C.B. Autophagy in metazoans: cell survival in the land of plenty. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:439–48.
 49. Lefranc F., Facchini V., Kiss R. Proautophagic drugs: a novel means to combat apoptosis-resistant cancers, with a special emphasis on glioblastomas. *Oncologist* 2007;12:1395–403.
 50. Noda T., Ohsumi Y. Tor, a phosphatidylinositol kinase homologue, controls autophagy in yeast. *J Biol Chem* 1998;273:3963–6.
 51. Straub M., Bredschneider M., Thumm M. AUT3, a serine/threonine kinase gene, is essential for autophagocytosis in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Bacteriol* 1997;179:3875–83.
 52. Matsuura A., Tsukada M., Wada Y. et al. Apg1p, a novel protein kinase required for the autophagic process in *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 1997;192:245–50.
 53. Kamada Y., Funakoshi T., Shintani T. et al. Tor-mediated induction of autophagy via an Apg1 protein kinase complex. *J Cell Biol* 2000;150:1507–13.
 54. Chan E.Y., Kir S., Tooze S.A. siRNA screening of the kinome identifies ULK1 as a multidomain modulator of autophagy. *J Biol Chem* 2007;282:25464–74.
 55. Hara T., Takamura A., Kishi C. et al. FIP200, a ULK-interacting protein, is required for autophagosome formation in mammalian cells. *J Cell Biol* 2008;181:497–510.
 56. Kundu M., Lindsten T., Yang C.Y. et al. Ulk1 plays a critical role in the autophagic clearance of mitochondria and ribosomes during reticulocyte maturation. *Blood* 2008;112:1493–502.
 57. Jung C.H., Jun C.B., Ro S.H. et al. ULK-Atg13-FIP200 complexes mediate mTOR signaling to the autophagy machinery. *Mol Biol Cell* 2009;20:992–2003.
 58. Young A.R., Narita M., Ferreira M. et al. Autophagy mediates the mitotic senescence transition. *Genes Dev* 2009;23:798–803.
 59. Axe E.L., Walker S.A., Manifava M. et al. Autophagosome formation from membrane compartments enriched in phosphatidylinositol 3-phosphate and dynamically connected to the endoplasmic reticulum. *J Cell Biol* 2008;182:685–701.
 60. Hayashi-Nishino M., Fujita N., Noda T. et al. A subdomain of the endoplasmic reticulum forms a cradle for autophagosome formation. *Nat Cell Biol* 2009;11:1433–7.
 61. Itakura E., Kishi C., Inoue K. et al. Beclin 1 forms two distinct phosphatidylinositol 3-kinase complexes with mammalian Atg14 and UVRAG. *Mol Biol Cell* 2008;19:5360–72.
 62. Zhong Y., Wang Q.J., Li X. et al. Distinct regulation of autophagic activity by Atg14L and Rubicon associated with Beclin 1-phosphatidylinositol-3-kinase complex. *Nat Cell Biol* 2009;11:468–76.
 63. Desai B.N., Myers B.R., Schreiber S.L. FKBP12-rapamycin-associated protein associates with mitochondria and senses osmotic stress via mitochondrial dysfunction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:4319–24.
 64. Petiot A., Ougier-Denis E., Blommaert E.F. et al. Distinct classes of phosphatidylinositol 3O-kinases are involved in signaling path-

- ways that control macroautophagy in HT-29 cells. *J Biol Chem* 2000;275:992–8.
65. Nobukuni T., Joaquin M., Rocco M. et al. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:14238–43.
 66. Byfield M.P., Murray J.T., Backer J.M. hVps34 is a nutrient-regulated lipid kinase required for activation of p70 S6 kinase. *J Biol Chem* 2005;280:33076–82.
 67. Ganley I.G., Lam du H., Wang J. et al. ULK1-ATG13-FIP200 complex mediates mTOR signaling and is essential for autophagy. *J Biol Chem* 2009;284:12297–305.
 68. Hosokawa N., Hara T., Kaizuka T. et al. Nutrient-dependent mTORC1 association with the ULK1-Atg13-FIP200 complex required for autophagy. *Mol Biol Cell* 2009;20:1981–91.
 69. He C., Klionsky D.J. Regulation mechanisms and signaling pathways of autophagy. *Annu Rev Genet* 2009;43:67–93.
 70. Stephan J.S., Yeh Y.Y., Ramachandran V. et al. The Tor and PKA signaling pathways independently target the Atg1/Atg13 protein kinase complex to control autophagy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:17049–54.
 71. Sarkar S., Ravikumar B., Floto R.A. et al. Rapamycin and mTOR-independent autophagy inducers ameliorate toxicity of polyglutamine-expanded huntingtin and related proteinopathies. *Cell Death Differ* 2009;16:46–56.
 72. Lee S.B., Kim S., Lee J. et al. ATG1, an autophagy regulator, inhibits cell growth by negatively regulating S6 kinase. *EMBO* 2007;Rep. 8:360–5.
 73. Scott R.C., Juhasz G., Neufeld T.P. Direct induction of autophagy by Atg1 inhibits cell growth and induces apoptotic cell death. *Curr Biol* 2007;17:1–11.
 74. 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.
 75. Hardie D.G. The AMP-activated protein kinase pathway. New players upstream and downstream. *J Cell Sci* 2004;117:5479–87.
 76. Carling D. AMP-activated protein kinase: Balancing the scales. *Biochimie* 2005;87:87–91.
 77. Kyriakis J.M. At the crossroads: AMP-activated kinase and the LKB1 tumor suppressor link cell proliferation to metabolic regulation. *J Biol* 2003;2:26.
 78. Carling D. The AMP-activated protein kinase cascade: a unifying system for energy control. *Trends Biochem Sci* 2004;29:18–24.
 79. Tokunaga C., Yoshino K., Yonezawa K. mTOR integrates amino acid and energy-sensing pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;313:443–6.
 80. Kershaw E.E., Flier J.S. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2548–56.
 81. Jazet I.M., Pijl H., Meinders A.E. Adipose tissue as an endocrine organ: Impact on insulin resistance. *Neth J Med* 2003;61:194–212.
 82. Meier U., Gressner A.M. Endocrine regulation of energy metabolism: Review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem* 2004;50:1511–25.
 83. Hegyi K., Fulop K., Kovacs K. et al. Leptin-induced signal transduction pathways. *Cell Biol Int* 2004;28:159–69.
 84. Alessi D.R., Sakamoto K., Bayascas J.R. LKB1-dependent signaling pathways. *Annu Rev Biochem* 2006;75:137–63.
 85. Spicer J., Ashworth A. LKB1 kinase: Master and commander of metabolism and polarity. *Curr Biol* 2004;14:R383–R385.
 86. Baas A.F., Smit L., Clevers H. LKB1 tumor suppressor protein: PArTaker in cell polarity. *Trends Cell Biol* 2004;14:312–9.
 87. Marignani P.A. LKB1, the multitasking tumor suppressor kinase. *J Clin Pathol* 2005;58:15–9.
 88. Carling D. LKB1: A sweet side to Peutz-Jeghers syndrome? *Trends Mol Med* 2006;12:144–7.
 89. Boudeau J., Kieloch A., Alessi D.R. et al. Functional analysis of LKB1/STK11 mutants and two aberrant isoforms found in Peutz-Jeghers syndrome patients. *Hum Mutat* 2003;21:172.
 90. Green J.B. Lkb1 and GSK3-beta: Kinases at the center and poles of the action. *Cell Cycle* 2004;3:12–4.
 91. Spicer J., Rayter S., Young N. et al. Regulation of the Wnt signalling component PARI1 by the Peutz-Jeghers syndrome kinase LKB1. *Oncogene* 2003;22:4752–6.
 92. Ossipova O., Bardeesy N., DePinho R.A. et al. LKB1 (XEEK1) regulates Wnt signalling in vertebrate development. *Nat Cell Biol* 2003;5:889–94.
 93. Nusse R. Wnt signaling in disease and in development. *Cell Res* 2005;15:28–32.
 94. 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.
 95. Carmeliet P., Dor Y., Herbert J. M. et al. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature* 1998;394:485–90.
 96. Pugh C.W., Ratcliffe P.J. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nature Med* 2003;9:677–84.
 97. Wang G.L., Semenza G.L. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1995;270:1230–7.
 98. Semenza G.L. Regulation of mammalian O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1999;15:551–78.
 99. Ikeda E., Achen M.G., Breier G. et al. Hypoxia-induced transcriptional activation and increased mRNA stability of vascular endothelial growth factor in C6 glioma cells. *J Biol Chem* 1995;270:19761–6.
 100. Mandriota S.J., Pepper M.S. Regulation of angiopoietin-2 mRNA levels in bovine microvascular endothelial cells by cytokines and hypoxia. *Circ Res* 1998;83:852–9.
 101. Hardie D.G. New roles for the LKB1-AMPK pathway. *Curr Opin Cell Biol* 2005;17:167–73.
 102. Reiling J.H., Hafen E. The hypoxia-induced paralogs Scylla and Charybdis inhibit growth by down-regulating S6K activity upstream of TSC in *Drosophila*. *Genes Dev* 2004;18:2879–92.
 103. Brugarolas J., Lei K., Hurley R.L. et al. Regulation of mTOR function in response to hypoxia by REDD1 and the TSC1/TSC2 tumor suppressor complex. *Genes Dev* 2004;18:2893–904.
 104. Lum J.J., Bauer D.E., Kong M. et al. Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis. *Cell* 2005;120:237–48.
 105. Bacon A.L., Harris A.L. Hypoxia-inducible factors and hypoxic cell death in tumour physiology. *Ann Med* 2004;36:530–9.
 106. Webster K.A., Graham R. M., Bishopric N.H. BNip3 and signal-specific programmed death in the heart. *J Mol Cell Cardiol* 2005;38:35–45.
 107. Cramer T., Yamanishi Y., Clausen B.E. et al. HIF-1 α is essential for myeloid cell-mediated inflammation. *Cell* 2003;112:645–57.
 108. Regazzetti C., Bost F., Le Marchand-Brustel Y. et al. Insulin induces REDD1 expression through hypoxia-inducible factor 1 activation in adipocytes. *J Biol Chem* 2010;285:5157–64.
 109. Wouters B.G., van den Beucken T., Magagnin M.G. et al. Control of the hypoxic response through regulation of mRNA translation. *Semin Cell Dev Biol* 2005;16:487–501.
 110. Love D.C., Hanover J.A. The hexosamine signaling pathway: Deciphering the O-GlcNAc code *Sci STKE* 2005;2005:re13.
 111. Zachara N.E., Cheung W.D., Hart G.W. Nucleocytoplasmic glycosylation, O-GlcNAc: Identification and site mapping. *Methods Mol Biol* 2004;284:175–94.
 112. McClain D.A., Lubas W.A., Cooksey R.C. et al. Altered glycan-dependent signaling induces insulin resistance and hyperleptinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:10695–9.
 113. Vosseller K., Wells L., Lane M.D. et al. Elevated nucleocytoplasmic glycosylation by O-GlcNAc results in insulin resistance associated with defects in Akt activation in 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:5313–8.
 114. Arias E.B., Kim A., Cartee G.D. Prolonged incubation in PUGNAc results in increased protein O-linked glycosylation and

- insulin resistance in rat skeletal muscle. *Diabetes* 2004;53:921–30.
115. Marshall S., Bacote V., Traxinger R.R. Complete inhibition of glucose induced desensitization of the glucose transport system by inhibitors of mRNA synthesis. Evidence for rapid turnover of glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase. *J Biol Chem* 1991;266:10155–61.
 116. Rumberger J.M., Wu T., Hering M.A. et al. Role of hexosamine biosynthesis in glucose-mediated up-regulation of lipogenic enzyme mRNA levels: Effects of glucose, glutamine, and glucosamine on glycerophosphate dehydrogenase, fatty acid synthase, and acetyl-CoA carboxylase mRNA levels. *J Biol Chem* 2003;278:28547–52.
 117. 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:E973–E979.
 118. Marshall S., Nadeau O., Yamasaki K. Glucosamine-induced activation of glycogen biosynthesis in isolated adipocytes. Evidence for a rapid allosteric control mechanism within the hexosamine biosynthesis pathway. *J Biol Chem* 2005;280:11018–24.
 119. Rossetti L., Giaccari A., DeFronzo R.A. Glucose toxicity. *Diabetes Care* 1990;13:610–30.
 120. McClain D.A., Crook E.D. Hexosamines and insulin resistance. *Diabetes* 1996;45:1003–9.
 121. Cooksey R.C., Hebert L.F. Jr, Zhu J.H. et al. Mechanism of hexosamine-induced insulin resistance in transgenic mice overexpressing glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase: decreased glucose transporter GLUT4 translocation and reversal by treatment with thiazolidinedione. *Endocrinology* 1999;140:1151–7.
 122. Rossetti L., Smith D., Shulman G.I. et al. Correction of hyperglycemia with phlorizin normalizes tissue sensitivity to insulin in diabetic rats. *J Clin Invest* 1987;79:1510–5.
 123. Hager S.R., Jochen A.L., Kalkhoff R.K. Insulin resistance in normal rats infused with glucose for 72 h. *Am J Physiol* 1991;260:E353–E362.
 124. Kahn B.B., Flier J.S. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 2000;106:473–81.
 125. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature (London)* 2001;414:813–20.
 126. Rossetti L. Perspective: Hexosamine and nutrient sensing. *Endocrinology* 2000;141:1922–5.
 127. Teo C.F., Wollaston-Hayden E.E., Wells L. Hexosamine flux, the O-GlcNAc modification, and the development of insulin resistance in adipocytes. *Mol Cell Endocrinol* 2010;318:44–53.
 128. Hebert L.F., Zhou M.C., Crook E.D. et al. Overexpression of glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase in transgenic mice leads to insulin resistance. *J Clin Invest* 1996;98:930–6.
 129. Gazdag A.C., Wetter T.J., Davidson R.T. et al. Lower calorie intake enhances muscle insulin action and reduces hexosamine levels. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;278:R504–R512.
 130. Wang J., Liu R., Hawkins M. et al. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature (London)* 1998;393:684–8.
 131. McClain D.A., Alexander T., Cooksey R.C. et al. Hexosamines stimulate leptin production in transgenic mice. *Endocrinology* 2000;141:1999–2002.
 132. Hawkins M., Barzilai N., Liu R. et al. Role of the glucosamine pathway in fat-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 1997;99:2173–82.
 133. Coleman R.A., Herrmann T.S. Nutritional regulation of leptin in humans. *Diabetologia* 1999;42:639–46.
 134. Considine R.V., Cooksey R.C., Williams L.B. et al. Hexosamines regulate leptin production in human subcutaneous adipocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3551–6.
 135. Considine R.V. Regulation of leptin production. *Rev Endocr Metab Disord* 2001;2:357–63.
 136. Zhang P., Klenk E.S., Lazzaro M.A. et al. Hexosamines regulate leptin production in 3T3-L1 adipocytes through transcriptional mechanisms. *Endocrinology* 2002;143:99–106.
 137. Torres C.R., Hart G.W. Topography and polypeptide distribution of terminal N-acetylglucosamine residues on the surfaces of intact lymphocytes. Evidence for O-linked GlcNAc. *J Biol Chem* 1984;259:3308–17.
 138. Holt G.D., Hart G.W. The subcellular distribution of terminal N-acetylglucosamine moieties. Localization of a novel protein-saccharide linkage, O-linked GlcNAc. *J Biol Chem* 1986;261:8049–57.
 139. Hanover J.A., Cohen C.K., Willingham M.C. et al. O-linked N-acetylglucosamine is attached to proteins of the nuclear pore. Evidence for cytoplasmic and nucleoplasmic glycoproteins. *J Biol Chem* 1987;262:9887–94.
 140. Snow C.M., Senior A., Gerace L. Monoclonal antibodies identify a group of nuclear pore complex glycoproteins. *J Cell Biol* 1987;104:1143–56.
 141. Jackson S.P., Tjian R. O-glycosylation of eukaryotic transcription factors: implications for mechanisms of transcriptional regulation. *Cell* 1988;55:125–33.
 142. Lubas W.A., Hanover J.A. Functional expression of O-linked GlcNAc transferase. Domain structure and substrate specificity. *J Biol Chem* 2000;275:10983–8.
 143. Comer F.I., Hart G.W. O-Glycosylation of nuclear and cytosolic proteins. Dynamic interplay between O-GlcNAc and O-phosphate. *J Biol Chem* 2000;275:29179–82.
 144. Yki-Jarvinen H., Virkamaki A., Daniels M. C. et al. Insulin and glucosamine infusions increase O-linked N-acetyl-glucosamine in skeletal muscle proteins in vivo. *Metabolism* 1998;47:449–55.
 145. Robinson K.A., Sens D.A., Buse M.G. Pre-exposure to glucosamine induces insulin resistance of glucose transport and glycogen synthesis in isolated rat skeletal muscles. Study of mechanisms in muscle and in rat-1 fibroblasts overexpressing the human insulin receptor. *Diabetes* 1993;42:1333–46.
 146. Giaccari A., Morviducci L., Zorretta D. et al. In vivo effects of glucosamine on insulin secretion and insulin sensitivity in the rat: possible relevance to the maladaptive responses to chronic hyperglycaemia. *Diabetologia* 1995;38:518–24.
 147. Baron A.D., Zhu J.S., Weldon J. et al. Glucosamine induces insulin resistance in vivo by affecting GLUT 4 translocation in skeletal muscle. Implications for glucose toxicity. *J Clin Invest* 1995;96:2792–801.
 148. Fisher T.L., White M.F. Signaling pathways: the benefits of good communication. *Curr Biol* 2004;14:R1005–R1007.
 149. Tanti J.F., Jager J. Cellular mechanisms of insulin resistance: role of stress-regulated serine kinases and insulin receptor substrates (IRS) serine phosphorylation. *Curr Opin Pharmacol* 2009;9:753–62.
 150. Gual P., Le Marchand-Brustel Y., Tanti J.F. Positive and negative regulation of insulin signaling through IRS-1 phosphorylation. *Biochimie* 2005;87:99–109.
 151. Reddy P.S., Legault H.M., Sypek J.P. et al. Mapping similarities in mTOR pathway perturbations in mouse lupus nephritis models and human lupus nephritis. *Arthr Res Ther* 2008;10:R127.
 152. Yoshimura N., Ohmoto Y., Yasui H. et al. The direct effect of FK506 and rapamycin on interleukin 1(beta) and immunoglobulin production in vitro. *Transplantation* 1994;57:1815–8.
 153. Foey A.D., Feldmann M., Brennan F.M. CD40 ligation induces macrophage IL-10 and TNF-alpha production: differential use of the PI3K and p42/44 MAPK-pathways. *Cytokine* 2001;16:131–42.
 154. Carlson R.P., Baeder W.L., Caccese R.G. et al. Effects of orally administered rapamycin in animal models of arthritis and other autoimmune diseases. *Ann NY Acad Sci* 1993;685:86–113.
 155. Cejka D., Hayer S., Niederreiter B. et al. Mammalian target of rapamycin signaling is crucial for joint destruction in experimental arthritis and is activated in osteoclasts from patients with

- rheumatoid arthritis. *Arthr Rheum* 2010;62:2294–302.
156. Migita K., Eguchi K., Aoyagi T. et al. The effects of the immunosuppressant rapamycin on the growth of rheumatoid arthritis (RA) synovial fibroblast. *Clin Exp Immunol* 1996;104:86–91.
 157. Laragione T., Gulko P.S. mTOR regulates the invasive properties of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis. *Mol Med* 2010;16:352–8.
 158. Bruyn G.A., Tate G., Caeiro F. et al. Everolimus in patients with rheumatoid arthritis receiving concomitant methotrexate: a 3-month, double-blind, randomised, placebo-controlled, parallel-group, proof-of-concept study. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1090–5.
 159. Häupl T., Ostensen M., Grützka A. et al. Reactivation of rheumatoid arthritis after pregnancy: increased phagocyte and recurring lymphocyte gene activity. *Arthr Rheum* 2008;58:2981–92.
 160. Boya P., Gonzalez-Polo R.A., Casares N. et al. Inhibition of macroautophagy triggers apoptosis. *Mol Cell Biol* 2005;25:1025–40.
 161. Shin Y.J., Han S.H., Kim D.S. et al. Autophagy induction and CHOP under-expression promotes survival of fibroblasts from rheumatoid arthritis patients under endoplasmic reticulum stress. *Arthr Res Ther* 2010;12:R19.
 162. Четина Е.В., Демидова Н.В., Каратеев Д.Е., Насонов Е.Л. Гетерогенность первичных больных ревматоидным артритом по экспрессии генов в крови: теоретические основы дифференциального подхода к терапии. *Науч-практич ревматол* 2011;4:24–31.
 163. Tchétina E., Demidova N.V., Semyenova L.A. et al. Differential expression of mammalian target of rapamycin (mTOR) in the peripheral blood of early-stage rheumatoid arthritis patients as a prognostic marker of the disease activity and knee joint destruction: a two year follow-up study. *Ann Rheum Dis* 2010;69(Suppl 3):675.
 164. 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.
 165. Gagarina V., Gabay O., Dvir-Ginzberg M. et al. SirT1 enhances survival of human osteoarthritic chondrocytes by repressing protein tyrosine phosphatase 1B and activating the insulin-like growth factor receptor pathway. *Arthr Rheum* 2010;62:1383–92.
 166. Sugatani T., Hruska K.A. Akt1/Akt2 and mammalian target of rapamycin/Bim play critical roles in osteoclast differentiation and survival, respectively, whereas Akt is dispensable for cell survival in isolated osteoclast precursors. *J Biol Chem* 2005;280:3583–9.
 167. Glantschnig H., Fisher J.E., Wesolowski G. et al. M-CSF, TNF α and RANK ligand promote osteoclast survival by signaling through mTOR/S6 kinase. *Cell Death Differ* 2003;10:1165–77.
 168. Kneissel M., Luong-Nguyen N.H., Baptist M. et al. Everolimus suppresses cancellous bone loss, bone resorption, and cathepsin K expression by osteoclasts. *Bone* 2004;35:1144–56.
 169. Tchétina E.V., Maslova K., Demin N. et al. Association of bone loss with upregulation of survival-related genes and concomitant downregulation of mammalian target of rapamycin (mTOR) and osteoblast differentiation-related genes in peripheral blood of osteoporotic postmenopausal women. *Ann Rheum Dis* 2009;68(Suppl 3):491.
 170. Ford-Hutchinson A.F., Ali Z., Lines S.E. et al. Inactivation of Pten in osteo-chondrogenitor cells leads to epiphyseal growth plate abnormalities and skeletal overgrowth. *J Bone Miner Res* 2007;22:1245–59.
 171. Cvetkovic M., Mann G.N., Romero D.F. et al. The deleterious effects of long-term cyclosporine A, cyclosporine G, and FK506 on bone mineral metabolism in vivo. *Transplantation* 1994;57:1231–7.
 172. Sun L., Blair H.C., Peng Y. et al. Calcineurin regulates bone formation by the osteoblast. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:17130–5.
 173. Epstein S., Shane E., Bilezikian J.P. Organ transplantation and osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol* 1995;7:255–61.
 174. Epstein S., Inzerillo A.M., Caminis J. et al. Disorders associated with acute rapid and severe bone loss. *J Bone Miner Res* 2003;18:2083–94.
 175. Fernandez D., Perl A. mTOR signaling: a central pathway to pathogenesis in systemic lupus erythematosus? *Discov Med* 2010;9:173–8.
 176. Perl A. Pathogenic mechanisms in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2010;43:1–6.
 177. Perl A. Systems biology of lupus: mapping the impact of genomic and environmental factors on gene expression signatures, cellular signaling, metabolic pathways, hormonal and cytokine imbalance, and selecting targets for treatment. *Autoimmunity* 2010;43:32–47.
 178. Fernandez D.R., Telarico T., Bonilla E. et al. Activation of mammalian target of rapamycin controls the loss of TCR ζ in lupus T cells through HRES-1/Rab4-regulated lysosomal degradation. *J Immunol* 2009;182:2063–73.
 179. Warner L.M., Adams L.M., Sehgal S.N. Rapamycin prolongs survival and arrests pathophysiologic changes in murine systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheum* 1994;37:289–97.
 180. Pua H.H., Guo J., Komatsu M. et al. Autophagy is essential for mitochondrial clearance in mature T lymphocytes. *J Immunol* 2009;182:4046–55.
 181. Fernandez D., Bonilla E., Mirza N. et al. Rapamycin reduces disease activity and normalizes T-cell activation-induced calcium fluxing in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthr Rheum* 2006;54:2983–8.
 182. Wu T., Qin X., Kurepa Z. et al. Shared signaling networks active in B cells isolated from genetically distinct mouse models of lupus. *J Clin Invest* 2007;117:2186–96.
 183. Nepal M., Mainali R., Schworer C.M. et al. Nephrotic range proteinuria: rare manifestation of scleroderma renal crisis. *Ann Clin Lab Sci* 2008;38:163–7.
 184. Yoshizaki A., Yanaba K., Yoshizaki A. et al. Treatment with rapamycin prevents fibrosis in tight-skin and bleomycin-induced mouse models of systemic sclerosis. *Arthr Rheum* 2010;62:2476–87.
 185. Mehrad B., Burdick M.D., Strieter R.M. Fibrocyte CXCR4 regulation as a therapeutic target in pulmonary fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41:1708–18.
 186. Yoon K.H. Proliferation signal inhibitors for the treatment of refractory autoimmune rheumatic diseases: a new therapeutic option. *Ann NY Acad Sci* 2009;1173:752–6.
 187. Fried L., Kirsner R.S., Bhandarkar S. et al. Efficacy of rapamycin in scleroderma: a case study. *Lymphat Res Biol* 2008;6:217–9.
 188. Su T.I., Khanna D., Furst D.E. et al. Rapamycin versus methotrexate in early diffuse systemic sclerosis: results from a randomized, single-blind pilot study. *Arthr Rheum* 2009;60:3821–30.
 189. Stepkowski S.M. Preclinical results of sirolimus treatment in transplant models. *Transplant Proc* 2003;35(Suppl):219S–226S.
 190. Yee K.W., Zeng Z., Konopleva M. et al. Phase I/II study of the mammalian target of rapamycin inhibitor everolimus (RAD001) in patients with relapsed or refractory hematologic malignancies. *Clin Cancer Res* 2006;12:5165–73.