

УДК 612.74,577.29

Регуляция экспрессии изоформ PGC-1 α в скелетных мышцах

Д. В. Попов^{1,2*}, Е. А. Лысенко¹, И. В. Кузьмин^{1,3}, О. Л. Виноградова^{1,2}, А. И. Григорьев^{1,2}

¹Институт медико-биологических проблем РАН, 123007, Москва, Хорошевское ш., 76а

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, 119192, Москва, Ломоносовский просп., 27б, стр. 10

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119234, Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

*E-mail: danil-popov@yandex.ru

Поступила в редакцию 26.11.2014

РЕФЕРАТ В обзоре рассмотрены функциональная роль и регуляция экспрессии различных изоформ белка-коактиватора PGC-1 α , одного из ключевых регуляторов биогенеза митохондрий в скелетной мышце. Паттерн экспрессии мРНК *PGC-1 α* может значительно изменяться в покое и после мышечной активности. Это связано с тем, что экспрессия гена *PGC-1 α* с канонического и альтернативного промоторов регулируется различными физиологическими стимулами, которые воздействуют на разные сигнальные пути. Экспрессия с канонического (проксимального) промотора регулируется главным образом через АМР-активируемую протеинкиназу, а с альтернативного – через β 2-адренорецепторы. Транскрибируемые с обоих промоторов мРНК подвергаются альтернативному сплайсингу с образованием укороченных изоформ PGC-1 α , которые обладают значительно большей устойчивостью к деградации и регулируют преимущественно ангиогенез, тогда как полноразмерные изоформы – биогенез митохондрий. Существование нескольких изоформ частично объясняет широкий спектр функций этого белка и повышает способность организма адаптироваться к различным физиологическим стимулам. Регуляция экспрессии гена *PGC-1 α* с помощью различных сигнальных путей позволяет рассчитывать на разработку фармакологических способов воздействия на экспрессию этого гена. Это может иметь важное значение для лечения и профилактики различных заболеваний, таких, как метаболический синдром и сахарный диабет. Изучение механизмов, регулирующих экспрессию гена *PGC-1 α* , и их функциональной роли может позволить управлять экспрессией этого гена с помощью физических нагрузок и/или фармакологических воздействий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА альтернативный сплайсинг, альтернативный промотор, скелетная мышца, PGC-1 α , экспрессия гена.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ AICAR – 5-аминоимидазол-4-карбоксамид-1- β -D-рибофуранозил-5'-монофосфат; АМРК – АМР-активируемая протеинкиназа; ATF – активирующий фактор транскрипции; СаМК – Ca²⁺/кальмодулин-зависимая протеинкиназа; CREB – сАМР-чувствительный фактор транскрипции; ERR – рецептор, родственник рецептору эстрогена; HDAC – деацетилаза гистонов класса IIa; HIF – фактор, индуцируемый гипоксией; IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста 1; MEF – стимулирующий фактор миоцитов; p38 MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа p38; PGC – коактиватор PPAR γ ; PKA – протеинкиназа А; PPAR – рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом; UCP – разобщающий белок; VEGFA – фактор роста эндотелия сосудов А; $\dot{V}O_{2max}$ – максимальная скорость потребления кислорода.

ВВЕДЕНИЕ

Скелетные мышцы составляют более 30% веса взрослого человека. Высокий уровень метаболической активности позволяет рассматривать скелетные мышцы как секреторный орган, активно влияющий на работу других органов [1]. Во время мышечной работы в скелетных мышцах многократно увеличивается кровоток, потребление кислорода и раз-

личных субстратов: глюкозы, жирных кислот и др. Одновременно в работающем мышечном волокне происходит выраженное накопление ионов кальция и различных метаболитов, может наблюдаться снижение энергетического заряда клетки и окислительно-восстановительного потенциала. В ответ на регуляторные аэробные физические нагрузки в скелетных мышцах развиваются значительные адаптационные

изменения: увеличивается уровень капилляризации, объемная плотность митохондрий и активность окислительных ферментов, повышается максимальная скорость потребления кислорода и способность выполнять длительную работу. По современным представлениям эти адаптационные изменения тесно связаны с функцией коактиваторов семейства PGC-1 (коактиваторы ядерного рецептора γ , активируемого пролифераторами пероксисом (PPARG)). Это семейство состоит из белков PGC-1 α , PGC-1 β и родственного PGC коактиватора. Одному из этих белков – PGC-1 α – принадлежит наиболее значимая роль в регуляции биогенеза митохондрий в скелетной мышце.

Важно отметить, что известно несколько изоформ PGC-1 α [2, 3]. По-видимому, этим можно частично объяснить столь широкий спектр функциональных свойств PGC-1 α . Именно поэтому в последнее десятилетие изучению функций PGC-1 α , механизмов активации этого белка и особенностей регуляции экспрессии его гена посвящено большое количество исследований. В скелетной мышце представлено несколько изоформ PGC-1 α , обладающих разными функциональными свойствами. В настоящем обзоре рассмотрена роль PGC-1 α и особенности регуляции экспрессии различных его изоформ, прежде всего в скелетных мышцах, как в покое, так и во время восстановления после физических нагрузок.

ПОЛНОРАЗМЕРНЫЕ ИЗОФОРМЫ PGC-1 α

Функциональная роль PGC-1 α

Во время и сразу после однократной аэробной нагрузки в скелетной мышце активируется ряд сигнальных киназ, таких, как АМР-зависимая протеинкиназа (АМРК), кальций/кальмодулин-зависимая протеинкиназа (СаМК) и митоген-активируемая протеинкиназа р38 МАРК [4], а также NAD-зависимая деацетилаза [5]. В результате этого увеличивается экспрессия гена PGC-1 α (PPARGC1A) (см. ниже), а также происходит увеличение фосфорилирования и снижение ацетилирования (т.е. активация) уже имеющегося в клетке белка PGC-1 α (рис. 1). В скелетных мышцах грызунов [6, 7] и человека [8, 9] активированный PGC-1 α переносится в ядро, где коактивирует целый ряд факторов транскрипции. По-видимому, вызванная физическими упражнениями активация PGC-1 α может происходить и без увеличения его содержания в ядре. Так, в скелетных мышцах человека однократные аэробные нагрузки повышают содержание в ядре АМРК α 2 [10] и фосфорилированной р38 МАРК [11]. Предполагается, что это может способствовать активации уже находящегося в ядре PGC-1 α .

Активированный PGC-1 α может участвовать в активации транскрипции своего собственного гена по механизму положительной обратной связи [12], а также в активации целого ряда факторов транскрипции, таких, как ядерный респираторный фактор (NRF)-1 и -2, эстроген-связанный рецептор (ERR) α , рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом (PPAR) α и γ . Активация этих белков инициирует экспрессию целого ряда генов, кодирующих белки, которые регулируют окислительные реакции и углеводно-жировой обмен [13–15]. С другой стороны, NRF-1 и NRF-2 увеличивают экспрессию генов митохондриальных факторов транскрипции А (TFAM), В1 (TFB1M) и В2 (TFB2M). Эти факторы, в основном TFAM и TFB2M, поступают в митохондрии и инициируют экспрессию генов, кодируемых митохондриальной ДНК [16]. Помимо этого, показано, что PGC-1 α может проникать в митохондрии, где образует комплекс с TFAM [7, 17, 18]. Предполагается, что это способствует инициации экспрессии митохондриальной ДНК (рис. 1). PGC-1 α также может индуцировать экспрессию фактора роста сосудистого эндотелия А (VEGFA) независимо от индуцируемого гипоксией фактора (HIF) 1 α [19, 20]. Результаты последних работ показывают, что в скелетной мышце ангиогенез может регулироваться через PGC-1 α -зависимую активацию макрофагов [21].

Таким образом, можно заключить, что аэробные физические нагрузки вызывают в скелетной мышце выраженное увеличение экспрессии гена PGC-1 α , активацию уже существующего в клетке белка PGC-1 α и изменение его внутриклеточной локализации. PGC-1 α оказывает комплексное влияние на экспрессию целого ряда ядерных и митохондриальных генов, действуя как один из основных регуляторов биогенеза митохондрий, углеводно-жирового обмена, а также ангиогенеза в скелетной мышце (рис. 1).

Регуляция экспрессии гена PGC-1 α с канонического промотора

Более 10 лет назад Puigserver и соавт. впервые клонировали ген PGC-1 α мыши [22]. Затем был охарактеризован ген PGC-1 α человека, состоящий из 13 экзонов и кодирующий белок из 798 аминокислотных остатков с расчетной массой около 91 кДа. В промоторной области этого гена найдены два основных сайта инициации транскрипции, расположенные на 90 и 119 п.н. выше инициаторного кодона АТГ [23]. В дальнейшем регуляция экспрессии с этого промотора (канонического, или проксимального) была изучена достаточно подробно (рис. 1).

Канонический промотор гена PGC-1 α содержит два консервативных участка связывания с фактором транскрипции MEF2 (стимулирующий фак-

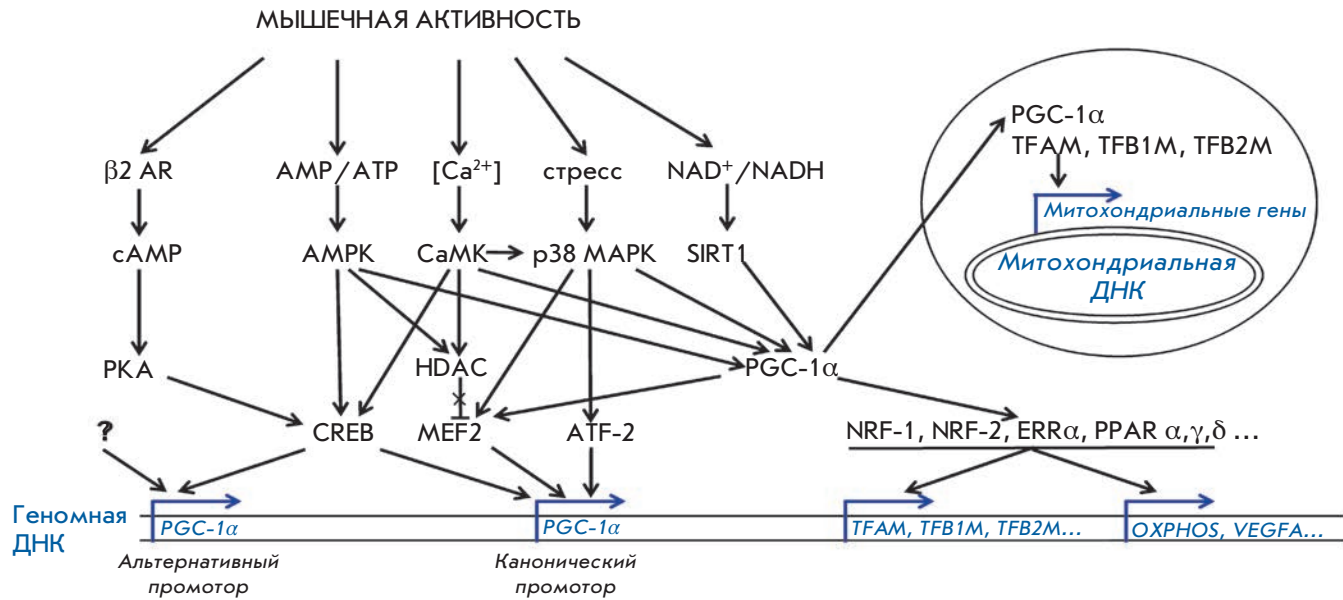


Рис. 1. Модель активации PGC-1 α и регуляции экспрессии его гена с канонического и проксимального промотора. AMPK – AMP-активируемая протеинкиназа, ATF – активирующий транскрипционный фактор, CaMK – Ca²⁺/кальмодулин-зависимая протеинкиназа, CREB – сAMP-чувствительный транскрипционный фактор, ERR – рецептор, родственник рецептору эстрогена, HDAC – деацетилаза гистонов класса IIa, MEF – стимулирующий фактор миоцитов, NRF – ядерный респираторный фактор, OXPHOS – гены, кодирующие белки, участвующие в реакциях окисления и фосфорилирования, p38 MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа p38, PGC – коактиватор PPAR-гамма, PKA – протеинкиназа A, PPAR – рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом, SIRT1 – NAD-зависимая деацетилаза sirtuin-1, TFAM – митохондриальный транскрипционный фактор A, TFB1M – митохондриальный транскрипционный фактор B1, TFB2M – митохондриальный транскрипционный фактор B2, VEGFA – эндотелиальный фактор роста сосудов A, $\beta 2$ AR – $\beta 2$ -адренорецептор

тор миоцитов 2) и CRE-участок связывания с CREB (сAMP-чувствительный фактор транскрипции) [23]. Результаты опытов на культуре клеток и на мышцах [12, 24], а также на скелетных мышцах мышей *in vivo* [25] подтвердили, что факторы MEF2 и CREB важны для активации транскрипции гена *PGC-1 α* .

Активированный белок PGC-1 α может коактивировать MEF2, увеличивая тем самым экспрессию своего гена [11, 12]. Однократная велоэргометрическая нагрузка повышает содержание фосфорилированной p38 MAPK^{Thr180/Tyr182} в ядрах скелетной мышцы человека, а также его комплекса с MEF2 [11], что, по-видимому, активирует MEF2. Активность MEF2 ингибируется гистондеацетилазами класса IIa (HDAC) [26] и связана, главным образом, с HDAC5 [25]. Аэробные упражнения увеличивают содержание фосфорилированного HDAC5, что приводит к разрушению комплекса MEF2–HDAC5 и экспорту HDAC5 из ядра [11, 27]. Вызванное упражнениями фосфорилирование HDAC регулируется киназами САМКII и АМПК [27], реагирующими на изменение внутримышечного содержания АМР и ионов кальция [28, 29], а активация САМКII и АМПК положительно

связана с интенсивностью аэробных упражнений [4, 30–34].

Семейство факторов транскрипции CRE включает CREB и активирующий транскрипцию фактор (ATF)-2. Фосфорилирование CREB^{Ser133} и его последующая активация регулируются многими сигнальными киназами, в том числе САМКII и АМПК [35, 36]. Вызванная однократной нагрузкой активация САМКII и АМПК увеличивает уровень фосфорилирования фактора CREB^{Ser133}, влияя тем самым на экспрессию с канонического промотора гена *PGC-1 α* [4, 37], причем уровень фосфорилирования CREB^{Ser133} в позднем периоде восстановления зависит от интенсивности нагрузки [4].

Индукцируемая стрессом киназа p38 MAPK повышает экспрессию гена *PGC-1 α* , фосфорилируя ATF-2^{Thr71} и активируя его [37–39]. На вызванную нагрузкой активацию p38 MAPK влияет множество факторов, включая кальций и активные формы кислорода [37, 39]. Аэробные упражнения независимо от их интенсивности повышают уровень фосфорилирования p38 MAPK^{Thr180/Tyr182} [4]. Более того, активация p38 MAPK^{Thr180/Tyr182} может определяться систем-

ными факторами: уровень фосфорилирования р38 MAPK^{Thr180/Tyr182} возрастает после аэробных упражнений даже в неактивных мышцах [40]. Тем не менее уровень фосфорилирования ATF-2^{Thr71} зависит от интенсивности аэробной нагрузки. Это может косвенно свидетельствовать о том, что вызванное нагрузкой фосфорилирование ATF-2^{Thr71} регулируется другими сигнальными путями [4].

Активация различных сигнальных киназ и их мишеней, HDAC, MEK2, ATF-2 и CREB, под действием упражнений усиливает транскрипционную активность промотора *PGC-1 α* . При этом экспрессия гена *PGC-1 α* линейно зависит от интенсивности аэробной нагрузки в диапазоне от умеренной до максимальной [4, 41–43].

Регуляция экспрессии изоформ *PGC-1 α* с альтернативного промотора

Несколько лет назад две группы исследователей практически одновременно обнаружили в гене *PGC-1 α* альтернативный промотор, активный в скелетной мышце человека, расположенный на 14 т.п.н. выше канонического (проксимального) промотора (рис. 2А) [2, 44]. В последующем в нервной ткани человека был описан еще один тканеспецифический альтернативный промотор, расположенный на 587 т.п.н. выше канонического, транскрипция с которого приводит к образованию нескольких изоформ *PGC-1 α* [45]. Этот промотор не обладал выраженной активностью в скелетной мышце. Следует заметить, что тканеспецифические изоформы *PGC-1 α* найдены в печени (L-*PGC-1 α*) [46]. Ниже будут рассмотрены особенности регуляции синтеза изоформ *PGC-1 α* , главным образом, в скелетной мышце.

Влияние активации β -адренорецепторов на экспрессию гена *PGC-1 α* изучали с использованием β 2-агониста кленбутерола, и обнаружили выраженное увеличение экспрессии в скелетных мышцах мышей, тогда как у животных с нокаутом β 1-, β 2- и β 3-адренорецепторов подобный эффект отсутствовал. Показано, что β 2-блокаторы пропранолол и ICI 118551 снижают увеличение экспрессии гена *PGC-1 α* в скелетных мышцах после 45-минутной беговой нагрузки (15 м/мин) [47]. Эти результаты позволили предположить, что экспрессия *PGC-1 α* , по крайней мере частично, регулируется через активацию β -адренорецепторов. Одновременно обнаружили, что в скелетной мышце экспрессируются различные изоформы мРНК *PGC-1 α* [2].

Установлено [2, 20, 44], что с альтернативного промотора, расположенного примерно на 14 т.п.н. выше канонического, с которого транскрибируется первый экзон (1а) в канонической изоформе, экспрессируются новые транскрипты. В результате альтерна-

тивного сплайсинга продуктов, транскрибируемых с альтернативного промотора, образуются два варианта первого экзона: 1b и 1c. Эти транскрипты были названы *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c*, а каноническая изоформа обозначена как *PGC-1 α -a*. Начиная со второго экзона, нуклеотидная последовательность всех трех изоформ была одинаковой. Аминокислотная последовательность, кодируемая первым экзоном, у изоформ *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c* отличалась и была короче, чем у канонического варианта на 4 и 13 аминокислотных остатков соответственно (рис. 2А). В покое в скелетных мышцах мышей [2, 20, 48] и человека [49–51] содержание мРНК изоформ, экспрессирующихся с альтернативного промотора, много меньше, чем транскрибируемых с канонического промотора. Однако опубликованы также данные, согласно которым в скелетных мышцах мыши в покое мРНК *PGC-1 α -a*, *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c* экспрессируются на сопоставимом уровне [52].

Новые изоформы оказались функционально активными. Для измерения активности изоформ культуру клеток НЕК 293 трансфицировали плазмидами, экспрессирующими различные рецепторы PPAR (α , δ и γ) и изоформы *PGC-1 α* . Оказалось, что белки *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c* активируют рецепторы так же, как *PGC-1 α -a* [2]. Физиологическая значимость экспрессии с альтернативного промотора подтверждена в опытах на трансгенных мышцах. Сверхэкспрессия *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c* в скелетных мышцах трансгенных мышей привела к увеличению экспрессии генов, регулирующих биогенез митохондрий и жировой обмен [2]. В скелетных мышцах мышей, сверхэкспрессирующих *PGC-1 α -b*, наблюдали также выраженное увеличение экспрессии генов-мишеней *PGC-1 α* : цитохромоксидазы (*COX*) 2 и 4, генов-регуляторов жирового обмена (*CD36*, *MCAD*, *CPT1* и др.), гена фактора роста сосудистого эндотелия (*VEGF*) A, а также увеличение активности цитратсинтазы (*CS*) – маркера митохондриальной плотности в ткани, и увеличение капиллярной плотности. Во время бега с возрастающей скоростью на бегущей дорожке трансгенные животные проявили большую работоспособность, большую максимальную скорость потребления кислорода ($\dot{V}O_{2max}$), у них менее заметно выросло содержание лактата в крови. При этом доля окисляемых жиров у них была больше, чем у животных дикого типа [53].

Удалось выявить функциональные особенности разных изоформ *PGC-1 α* . Так произвольный бег в беговом колесе [20] и бег умеренной интенсивности (15 м/мин, 45 мин) на бегущей дорожке [2] привели к выраженному увеличению экспрессии в скелетных мышцах мышей мРНК *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c*, экспрессия мРНК *PGC-1 α -a* при этом не возросла.

Увеличение скорости бега до 20 и 30 м/мин привело к росту экспрессии мРНК *PGC-1 α -b* в 20 и 33 раза соответственно [48]. Любопытно, что увеличение нагрузки лишь несколько увеличило (в 1.4 и 1.8 раза соответственно) содержание мРНК *PGC-1 α -a*, транскрибируемой с канонического промотора. При этом после нагрузки уровень мРНК *PGC-1 α -b* стал выше, чем *PGC-1 α -a*. Сходным было соотношение между мРНК *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -a* в мышцах людей после аэробной нагрузки умеренной интенсивности длительностью 45–90 мин [49, 50]. В других тканях с высоким уровнем метаболической активности, как и в мышцах, наблюдались различия в экспрессии изоформ *PGC-1 α* при воздействии различных физиологических стимулов. Например, в печени мышей после 21-часового голодания выражено возрастала экспрессия только мРНК *PGC-1 α -a*. В буром жире мышей, выдержанных в течение нескольких часов при 4°C, увеличилась экспрессия только мРНК *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c* [2, 54].

Приведенные результаты позволили предположить, что в скелетных мышцах экспрессия с альтернативного промотора гена *PGC-1 α* регулируется через активацию β 2-адренорецепторов [2, 20]. Это предположение было подтверждено в опытах с кленбутеролом, инъекции которого на несколько порядков увеличивали содержание в скелетных мышцах мышей мРНК *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c* (*PGC-1 α -2* и *PGC-1 α -3* в [20]), содержание мРНК *PGC-1 α -a* (*PGC-1 α -1* в [20]) при этом не менялось. Напротив, пропранолол и селективный ингибитор β 2-адренорецепторов ICI 118551 подавляли вызванное аэробной нагрузкой увеличение транскрипции мРНК изоформ *PGC-1 α* с альтернативного промотора. С другой стороны, фармакологическая активация АМПК должна была привести к специфическому увеличению экспрессии *PGC-1 α -a* с канонического промотора. АМПК активировали с помощью 5-аминоимидазол-4-карбоксамид-1- β -D-рибофуранозил-5'-монофосфата (AICAR) [48]. Однако инъекция AICAR стимулировала в скелетных мышцах экспрессию гена *PGC-1 α* не только с канонического (примерно на 50%), но и с альтернативного (примерно на порядок) промоторов. По-видимому, это было связано с увеличением содержания адреналина (примерно на порядок) и норадреналина (примерно на 30%) в крови и стимуляцией мышечных β 2-адренорецепторов под действием AICAR. С целью исключения системного влияния изолированную мышцу крысы инкубировали в AICAR, что вызвало увеличение экспрессии мРНК *PGC-1 α -a* (примерно на 50%) без изменения содержания мРНК *PGC-1 α -b*. Это хорошо согласуется с более ранними результатами,

согласно которым AICAR не усиливает экспрессию с альтернативного промотора гена *PGC-1 α* в миобластах C2C12 [44]. Напротив, форсколин – активатор аденилатциклазы, стимулирует экспрессию только с альтернативного промотора. Кроме того, добавление ионофора кальция и сверхэкспрессия главных участников кальциевой сигнализации – CaMKIV и фосфатазы кальциейрина А, а также киназы p38 MAPK (МКК6) – приводит к увеличению экспрессии гена *PGC-1 α* с альтернативного промотора. Трансфекция миобластов плазмидами, содержащими фрагмент альтернативного промотора (дикого типа либо мутантный), показала, что активация альтернативного промотора зависит от связывания CREB с CRE-участком. Сходные результаты получены при трансфекции *m. tibialis anterior* у мышей [20]. Как уже говорилось, CRE-связывающий сайт содержится не только в альтернативном промоторе, но и в каноническом. На сегодняшний день не ясно, почему фосфорилирование CREB при активации β 2-адренорецепторов приводит к увеличению экспрессии преимущественно с альтернативного промотора [48]. Канонический промотор *PGC-1 α* содержит характерную для CRE-сайта палиндромную последовательность TGACGTCA, тогда как в альтернативном промоторе CRE-сайт не является полностью палиндромным из-за замены одного нуклеотида. Такой вариант CRE-участка способен связываться с CREB и необходим для транскрипции с альтернативного промотора. При этом сродство CREB к CRE-участку, содержащему замену, ниже, чем к палиндромной последовательности CRE-сайта в каноническом промоторе [44, 48].

Можно предположить, что в покое для обеспечения высокого (почти максимального) уровня экспрессии с канонического промотора гена *PGC-1 α* достаточно небольшой концентрации фосфорилированного CREB; при значительном повышении концентрации этого белка транскрипция с канонического промотора несколько возрастает. Для существенного увеличения экспрессии с альтернативного промотора необходимо высокое содержание фосфорилированного CREB. Следовательно, альтернативный промотор может оказаться намного чувствительнее к изменению концентрации фосфорилированного CREB, что объясняет различия в регуляции транскрипции с двух промоторов в покое и после мышечной активности. Не исключена возможность регуляции транскрипции с альтернативного промотора другими факторами транскрипции, родственными CREB. Также показано, что специфические мышечные факторы MyoD и MRF4 могут трансаktivировать альтернативный промотор, взаимодействуя с проксимальным мотивом E-box [44].

Таким образом, на основании экспериментов, проведенных на мышцах грызунов, предложена модель регуляции экспрессии изоформ PGC-1 α в скелетных мышцах при аэробных упражнениях [20, 48]. Низкоинтенсивные аэробные нагрузки не вызывают активации AMPK, но стимулируют симпатическую нервную систему. Это приводит к активации β 2-адренорецепторов и протеинкиназы A, увеличению содержания cAMP и фосфорилирования CREB^{Ser133} (рис. 1). Возможность регуляции экспрессии гена PGC-1 α без участия AMPK хорошо согласуется с тем, что при аэробных упражнениях умеренной интенсивности в мышцах людей не увеличивается уровень фосфорилирования AMPK^{Thr172} и экспрессии с канонического промотора, но при этом существенно возрастает экспрессия с альтернативного промотора [49, 50].

При интенсивности аэробных упражнений более 50–60% от $\dot{V}O_{2max}$ в скелетных мышцах активируется AMPK [30, 31] и одновременно продолжает расти активность симпатической нервной системы. Последнее приводит к усилению активности β 2-адренорецепторов и дополнительной стимуляции экспрессии с альтернативного промотора гена PGC-1 α . С другой стороны, активация AMPK приводит к инициации экспрессии с канонического промотора, что, по-видимому, происходит только при достаточно интенсивных аэробных физических нагрузках, вызывающих в мышцах выраженные метаболические изменения.

Необходимо отметить, что до сих пор не сформировано однозначное мнение о системе регуляции экспрессии гена PGC-1 α в скелетных мышцах. Некоторые работы ставят под сомнение описанную выше модель. Определение уровня мРНК и белка PGC-1 α в тканях крысы через 6 и 18 ч после инъекций кленбутерола или норадреналина [55] выявило заметное повышение этих показателей в бурой жировой ткани, но не в скелетных мышцах. Кленбутерол вызвал увеличение фосфорилирования CREB^{Ser133} в мышце, однако активность промотора гена PGC-1 α при этом не изменилась. Эти данные рассматриваются как аргумент против описанной модели. Отсутствие увеличения экспрессии мРНК PGC-1 α в мышце обусловлено, по-видимому, использованием праймеров для экзона 1a (прямой) и 2 (обратный), которые определяли экспрессию только с канонического промотора. Используемая для определения люциферазной активности плазида содержала, очевидно, фрагмент канонического промотора PGC-1 α , что объясняет отсутствие повышения активности этого промотора в ответ на кленбутерол. Однако эти рассуждения не объясняют отсутствия изменений уровня белка PGC-1 α в скелетной мышце, поскольку

использовали антитела, которые должны были выявлять белковые продукты транскрипции с обоих промоторов.

Изучение эффектов AICAR и норадреналина на миобласты, выращенные из биоптатов скелетной мышцы человека, показало [49], что норадреналин вызывает увеличение экспрессии только мРНК PGC-1 α -b, что полностью согласуется с представленной выше моделью. Однако AICAR усиливает экспрессию не только с канонического промотора (мРНК PGC-1 α -a), но и с альтернативного (мРНК PGC-1 α -b), причем совместное использование AICAR и норадреналина оказывало аддитивный эффект на экспрессию с альтернативного промотора. Сделан вывод, что AMPK является наиболее важным регулятором гена PGC-1 α и может регулировать экспрессию с обоих промоторов. Возможность AMPK регулировать экспрессию гена PGC-1 α с обоих промоторов недавно была показана в скелетных мышцах мышей [62]. Помимо этого, стоит упомянуть о возможности активации p38 MAPK с помощью адреналина [56], что теоретически способно влиять на регуляцию экспрессии гена PGC-1 α с канонического промотора.

Таким образом, физические нагрузки различной интенсивности могут усиливать экспрессию PGC-1 α с разных промоторов. В упомянутых выше работах подразумевалось, что экспрессируются полноразмерные изоформы, содержащие 13 экзонов. Впоследствии было показано, что в результате альтернативного сплайсинга могут образоваться мРНК, содержащие стоп-кодон после экзона 6, которые кодируют укороченные варианты белка PGC-1 α . В большинстве рассмотренных работ использовали прямой праймер к одному из вариантов первого экзона (1a, 1b и 1c) и обратный – ко второму экзону, общему для всех изоформ, а на иммуноблоте оценивали изменение содержания только белка с мол. массой более 90 кДа, что соответствует полноразмерному белку. По-видимому, часть транскриптов PGC-1 α в описанных работах кодировала полноразмерный белок, а часть – укороченный. Ниже будет показано, что эти два белка действительно имеют различные характеристики и функции, что вполне ожидаемо, поскольку в укороченном белке отсутствуют многие активные сайты, представленные в полноразмерном белке.

Не ясно, все ли мРНК PGC-1 α могут транслироваться *in vivo* и есть ли различия в функциях продуктов трансляции. Получаемые изоформы белков должны отличаться лишь несколькими первыми аминокислотными остатками. Маловероятно, что эти отличия могут сильно повлиять на функциональные свойства полноразмерных или укороченных изоформ. Часто N-концевой фрагмент белка содер-

жит сигнальные последовательности, отвечающие за транспорт внутри клетки. По нашим неопубликованным данным изоформы PGC-1 α не содержат типичных сигналов, регулирующих транспорт в ядро или в митохондрии. Отсутствие известных сигналов не исключает особенностей внутриклеточного распределения разных изоформ PGC-1 α , но, по-видимому, эти различия несущественны. Важно отметить, что наличие разных промоторов свидетельствует о том, что экспрессия гена *PGC-1 α* может регулироваться различными сигнальными путями, которые активируются разными физиологическими стимулами.

Укороченные изоформы PGC-1 α

Исследуя адаптационный ответ скелетных мышц крыс на аэробные упражнения, Ваар и соавт. [57] обнаружили на иммуноблоте помимо полноразмерного белка PGC-1 α полосу, соответствующую белку ~34 кДа, что интерпретировали как присутствие укороченной изоформы PGC-1 α . Впоследствии Zhang и соавт. [37] выявили в бурой жировой ткани мышцей укороченную (N-truncated) NT-изоформу PGC-1 α , которая образуется в результате альтернативного сплайсинга между экзонами 6 и 7 и содержит короткую вставку – экзон 7а с преждевременным стоп-кодоном (рис. 2В). Белок NT-PGC-1 α детектируется на иммуноблоте в области 35–38 кДа, а в базе данных NCBI представлены мРНК человека (AB061325) и мыши (AB061324) [3], кодирующие белки из 271 и 270 аминокислотных остатков соответственно. Изоформа *NT-PGC-1 α* теоретически может транскрибироваться как с проксимального (1а), так и с альтернативного (1b и 1с) промоторов [54], чем, по-видимому, объясняется присутствие нескольких полос на иммуноблоте в области 35–38 кДа [3]. Изоформы белка NT-PGC-1 α обнаружены в головном мозге мышцей, почках и сердечной мышце человека. При этом содержание мРНК и белка укороченных изоформ и полноразмерного PGC-1 α было сопоставимым [3]. Позднее было показано, что в скелетных мышцах человека также экспрессируется мРНК NT-изоформ [52], составляющая значительную часть мРНК *PGC-1 α* [50, 51].

NT-изоформы сохранили два необходимых домена PGC-1 α : N-концевой, который рекрутирует SRC-1 и CREB-связывающий белок, и два LXXLL-подобных мотива, обеспечивающих взаимодействие с ядерными рецепторами. Сохранились некоторые сайты, фосфорилируемые p38 MAPK, PKA и AMPK. В то же время в NT-изоформах отсутствует C-концевой фрагмент, содержащий последовательность, регулирующую транспорт в ядро, лиганд-независимый PPAR γ -связывающий регион,

SR-богатый и RRM-домены, а также FOXO1, MEFC2 и TRAP220, C-концевой домен, регулирующий стабильность белка, и множество сайтов, участвующих в посттрансляционной модификации и регуляции белка (сайты фосфорилирования GSK-3 β , AMPK, Akt, p38 MAPK, PKA, метилирования аргинина и ацетилирования лизина) [3, 58, 59]. Столь выраженные отличия от полноразмерных изоформ определяют уникальные свойства NT-изоформ.

Внутриклеточная локализация и стабильность

Молекулярные механизмы, регулирующие стабильность белка PGC-1 α и его внутриклеточную локализацию, изучали еще до открытия NT-изоформ [60]. С этой целью в культуре кардиомиоцитов и в клетках COS-7 экспрессировали мутантные белки PGC-1 α , у которых отсутствовали различные C-концевые фрагменты. Оказалось, что полноразмерный PGC-1 α (аминокислотные остатки 1–797) – это короткоживущий белок, локализованный преимущественно в ядре, тогда как укороченный белок (1–565) находится как в ядре, так и в цитоплазме, а мутантный белок, состоящий из 292 аминокислотных остатков, – преимущественно в цитоплазме. Удаление C-концевого фрагмента привело к выраженному увеличению стабильности белка PGC-1 α . По-видимому, это связано со снижением уровня его убиквитинирования [60, 61]. Результаты этих экспериментов хорошо соотносятся со свойствами открытых впоследствии NT-изоформ PGC-1 α . Отсутствие C-концевого фрагмента делает NT-изоформы более устойчивыми к деградации по сравнению с полноразмерными PGC-1 α [3, 58].

На клеточной линии CHO-K1 [3, 58], а позже на мышечных волокнах мыши [59] с помощью конфокальной микроскопии было показано, что NT-изоформы, в отличие от полноразмерных изоформ PGC-1 α , локализованы преимущественно в цитоплазме (~90%). С помощью трансфекции различных NT-изоформ в клетки CHO-K1 установлено, что цитоплазматическая локализация характерна для всех укороченных изоформ, синтезируемых как с канонического (NT-PGC-1 α -а), так и с альтернативного промотора (NT-PGC-1 α -b и NT-PGC-1 α -c) [54]. Это свидетельствует о том, что локализация изоформ PGC-1 α зависит прежде всего от C-концевого фрагмента, а не от N-концевой последовательности.

Локализация NT-изоформ в клетке регулируется различными белками. На мышечных волокнах [59] и на клетках CHO-K1 [58] показано, что лептомицин Б – специфический ингибитор экспорта 1 – белка, регулирующего ядерный экспорт, вызывает увеличение содержания NT-PGC-1 α в ядре. По-видимому, низкое содержание NT-PGC-1 α в ядре связано

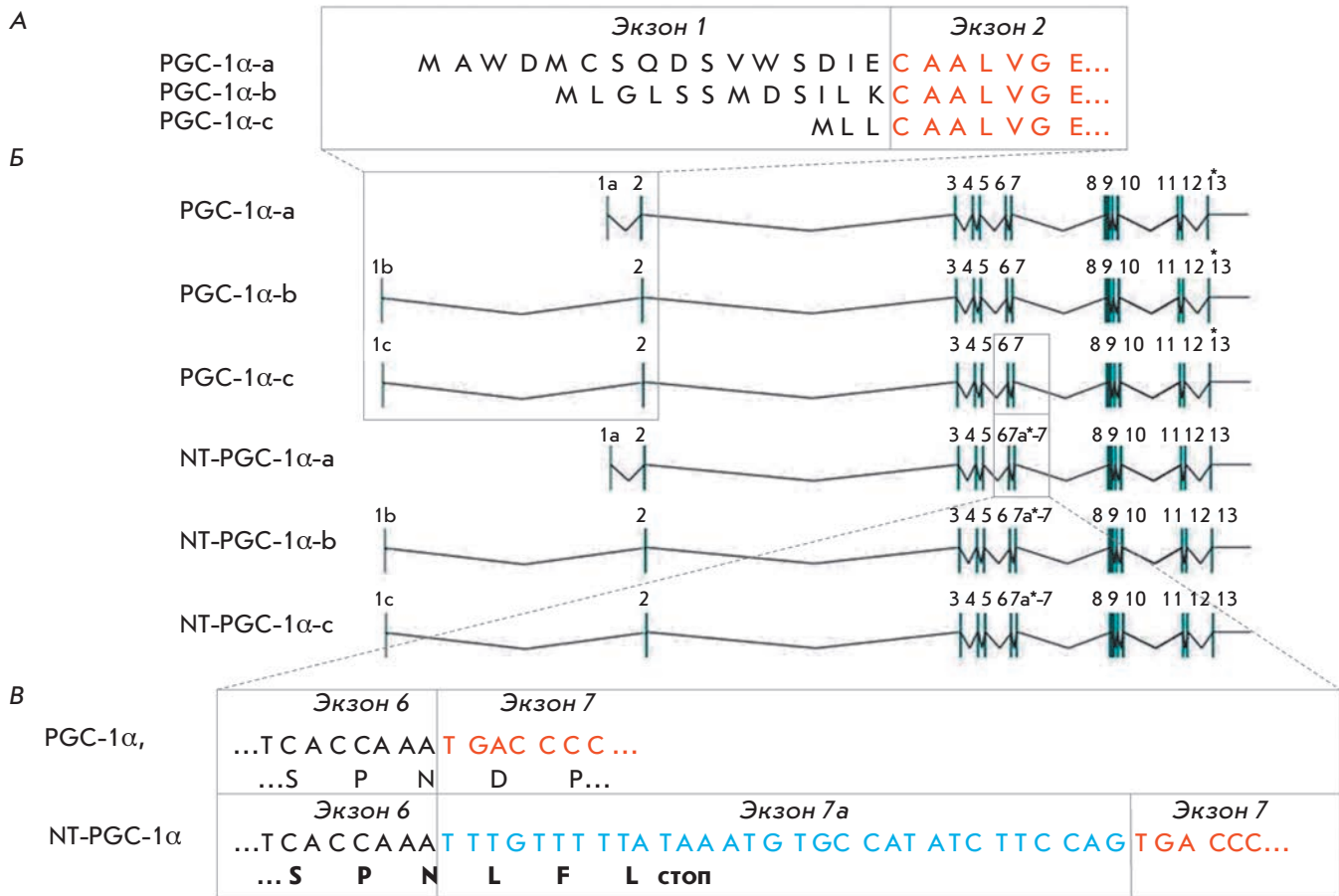


Рис. 2. А – различные изоформы PGC-1α мышцы экспрессируются с канонического (PGC-1α-a) и альтернативного промотора (PGC-1α-b и PGC-1α-c) и кодируют разные аминокислотные последовательности в первом экзоне. Б – расположение экзонов (вертикальные линии) у различных изоформ PGC-1α на геномной ДНК. Звездочкой обозначен стоп-кодон. В – нуклеотидная и аминокислотная последовательности между 6 и 7 экзонами полноразмерных (PGC-1α) и укороченных (NT-PGC-1α) изоформ

с тем, что скорость экспорта 1-зависимого экспорта из ядра превышает скорость диффузии в ядро [58]. Не исключена также возможность экспорта 1-независимого ядерного экспорта [59]. Активация опосредованной сАМР сигнализации увеличивает представленность NT-PGC-1α в ядерной фракции как мышечных волокон [59], так и клеток бурого жира [3]. Это предположительно связано с тем, что фосфорилирование NT-PGC-1α в положении 194, 241 и 256 с помощью РКА снижает экспорт 1-зависимый ядерный экспорт [58]. С другой стороны, по-видимому, существует р38 MAPK-зависимый механизм регуляции внутриклеточной локализации NT-PGC-1α. В клетках бурой жировой ткани увеличение содержания NT-PGC-1α в ядре, вызванное введением аналога сАМР (8-СРТ-сАМР), снижается при ингибировании р38 MAPK [3]. Однако следует

отметить, что ингибирование р38 MAPK приводило лишь к небольшому снижению прироста ядерной фракции NT-PGC-1α, тогда как ингибирование РКА полностью подавляло этот прирост. Это свидетельствует о ведущей роли β-адренорецепции в регуляции внутриклеточной локализации NT-PGC-1α и согласуется с данными, согласно которым в культуре мышечных волокон ни АICAR-зависимая активация AMPK, ни вызванная электрической стимуляцией активация р38 MAPK не вызывают увеличения содержания NT-PGC-1α в ядре [59].

Регуляция экспрессии мРНК NT-изоформ

NT-изоформы образуются в результате трансляции мРНК PGC-1α, содержащей вставку со стоп-кодоном в рамке считывания, между экзонами 6 и 7. Экспрессия NT-изоформ может динамично регу-

лироваться под влиянием различных физиологических факторов. Например, аэробная физическая нагрузка приводит к сопоставимому увеличению экспрессии полноразмерных и NT-изоформ мРНК *PGC-1 α* в мышцах мышей [62] и человека [50, 51]. При этом NT-изоформы могут экспрессироваться как с канонического, так и с альтернативного промотора [51, 62], а уровень их экспрессии, как и у полноразмерных изоформ, зависит от интенсивности нагрузки [62].

Можно предположить, что увеличение экспрессии как укороченных, так и полноразмерных изоформ мРНК *PGC-1 α* связано с активацией AMPK и β -адренорецепции, а регуляторные механизмы, описанные для полноразмерных изоформ, справедливы для NT-изоформ. Действительно, в стимулированных AICAR мышечных миотубах возрастают уровни мРНК укороченных и полноразмерных изоформ *PGC-1 α* [51]. Инъекции как AICAR, так и кленбутерола вызывают сопоставимое относительное увеличение экспрессии полноразмерных и укороченных изоформ в мышцах мыши [62]. С другой стороны, холодовая экспозиция (5 ч, 4°C) приводит к увеличению экспрессии мРНК *NT-PGC-1 α* и полноразмерной *PGC-1 α* (на ~15%) и их белков в буром жире мыши [3]. При этом при нормальной температуре (22°C) экспрессия происходит преимущественно с канонического промотора (мРНК *NT-PGC-1 α -a* и *PGC-1 α -a*). Холодовая экспозиция увеличивает преимущественно экспрессию с альтернативного промотора (мРНК *NT-PGC-1 α -b*, *NT-PGC-1 α -c*, *PGC-1 α -b* и *PGC-1 α -c*), что связано с активацией β -адренорецепции [3, 54].

Недавно Thom и соавт. [63] показали, что сплайсинг мРНК *PGC-1 α* между экзонами 6 и 7 может инициироваться гипоксией. Так, в культуре миоцитов скелетной мышцы, а также в миоцитах с подавленной активностью HIF-1 и -2 гипоксия (0.5% O₂, 16 ч) вызывала увеличение экспрессии только NT-изоформ. Это означает, что гипоксия индуцирует сплайсинг мРНК *PGC-1 α* независимо от сигнальных путей HIF.

Таким образом, регуляция экспрессии гена *PGC-1 α* с разных промоторов и регуляция сплайсинга – это независимые процессы. В заключение следует отметить, что до сих пор не ясно, все ли NT-изоформы могут транслироваться *in vivo* и существуют ли функциональные различия между этими изоформами.

Функциональная роль NT-изоформ

С помощью различных экспериментальных подходов *in vitro* было убедительно показано, что белок NT-*PGC-1 α* обладает функциональной активностью, т.е. способен коактивировать различные ядерные рецепторы: PPAR α и PPAR γ в CHO-K1-клетках

[3] и PPAR α , PPAR γ и ERR α в клетках COS-1 [54]. Гиперэкспрессия NT-*PGC-1 α* в клетках бурой жировой ткани (так же как и полноразмерных изоформ) увеличивает экспрессию мРНК *UCP1* и *CPT-1 β* , а также соотношение митохондриальной и ядерной ДНК, которое считается маркером активации биогенеза митохондрий [3].

Важно отметить, что функционально NT-изоформы *PGC-1 α* значительно отличаются от полноразмерных изоформ. Экспрессия генов-мишеней *PGC-1 α* и NT-*PGC-1 α* может различаться. При сверхэкспрессии полноразмерного *PGC-1 α -a* (*PGC-1 α -1* согласно [52]) в миотубах изменяется экспрессия 2002 генов, а тогда как NT-*PGC-1 α -b* (*PGC-1 α -4*, согласно [52]) влияет только на 519 генов. Причем одновременно эти изоформы влияют на экспрессию только 98 генов [52]. В адипоцитах бурой жировой ткани, экспрессирующих *PGC-1 α* или NT-*PGC-1 α* , наблюдается повышение экспрессии генов *Cox7al* и PPAR α , однако увеличение экспрессии *CPT-1 β* , *UCP1*, ERR α и *Cox8b* зависело только от NT-*PGC-1 α* , а *CytC* – только от полноразмерного *PGC-1 α* [58, 64].

Недавно появились данные, свидетельствующие о том, что в клетках скелетной мышцы NT-изоформы *PGC-1 α* активируют преимущественно ангиогенез, тогда как полноразмерные изоформы влияют на биогенез митохондрий и ангиогенез [63]. Миотубы, полученные из миобластов *PGC-1 α -/-* мыши, инфицировали аденовирусом, кодирующим NT-*PGC-1 α -a* или *PGC-1 α -a*. Это привело к сопоставимому повышению уровня мРНК этих изоформ. При этом уровень экспрессии генов-мишеней белка *PGC-1 α* и их белковых продуктов был разным. В миотубах, экспрессирующих NT-*PGC-1 α -a*, уровень мРНК генов-мишеней не изменился, а содержание митохондриальных белков, входящих в состав комплексов III и V, несколько повысилось, тогда как в клетках, экспрессирующих *PGC-1 α -a*, эти показатели существенно выросли. Сходная картина обнаружена для скорости потребления кислорода клетками: увеличение этого показателя было найдено только после увеличения экспрессии *PGC-1 α -a*. Напротив, NT-*PGC-1 α -a* вызывал большее, чем *PGC-1 α -a*, увеличение экспрессии гена *VEGFA* и активацию ангиогенеза. Эти результаты проверили в условиях *in vivo* с использованием трансгенных мышей со сверхэкспрессией одной из изоформ NT-*PGC-1 α -b* (*PGC-1 α 4* в [63]) в скелетных мышцах. Экспрессия генов-регуляторов ангиогенеза (*VEGFA*, *CD31*, *ANGPT2*) у трансгенных животных была повышена по сравнению с контролем, они имели большую капиллярную плотность в *m. tibialis anterior*. Преимущественная активация ангиогенеза

NT-изоформами объясняется сохранностью в них мотива LXXLL, с помощью которого осуществляется взаимодействие с $ERR\alpha$ – одним из регуляторов экспрессии *VEGFA* [20, 63].

Получить животных с нокаутом NT-PGC-1 α достаточно сложно, что не позволяет оценить влияние этой изоформы на фенотип и функции мышечной системы и целого организма. Тем не менее получены мыши [54, 65], у которых не экспрессируются полноразмерные изоформы PGC-1 α , но синтезируется мутантный вариант, состоящий из первых 254 аминокислотных остатков. Этот белок всего лишь на несколько остатков короче нативного NT-PGC-1 α и является его функциональным эквивалентом [54]. Показано [65], что у таких животных с нокаутом полноразмерной изоформы масса *m. soleus* – мышцы, состоящей преимущественно из волокон первого типа с высокими окислительными возможностями, была несколько меньше, чем у мышей дикого типа, а масса преимущественно гликолитической *m. tibialis anterior* осталась без изменений. Гистологический анализ не выявил заметных изменений в клетках скелетных мышц. Тем не менее в *m. soleus* (но не в *m. tibialis anterior*) объемная плотность митохондрий, базальная экспрессия генов-регуляторов биогенеза митохондрий, максимальная скорость стимулированного АДФ дыхания митохондрий, а также время бега до отказа в тесте с возрастающей нагрузкой на бегущей дорожке и $\dot{V}O_{2max}$ организмом у животных с нокаутом полноразмерной изоформы были значительно меньше, чем у животных дикого типа [65]. Любопытно, что у взрослых опытных животных экспозиция при 4°C вызывала снижение температуры тела, сопоставимое с контролем. По-видимому, это было связано с сохраненной способностью увеличивать экспрессию гена *UCP1* в буром жире [54, 65, 66], регулируемой, возможно, по Twist-1-зависимому механизму. Показано, что фактор транскрипции Twist-1 – негативный регулятор полноразмерного PGC-1 α , не влияет на активацию NT-PGC-1 α [64].

Интересно сравнить результаты изучения мышей с нокаутом полноразмерного PGC-1 α и мышей, у которых отсутствует активность белка PGC-1 α (изменена нуклеотидная последовательность мРНК PGC-1 α после экзона 2) во всем организме [67, 68] или только в скелетных мышцах [69, 70]. Размеры мышечных волокон, их состав и объемная плотность митохондрий у мышей с инактивированным PGC-1 α остались такими же, как у животных дикого типа. Подобные результаты можно частично объяснить гиперактивностью, возникающей из-за выраженных нарушений в головном мозге этих мышей [67, 68]. С другой стороны, в скелетных мышцах животных с нокаутом была снижена доля окислительных во-

локон типа I как в преимущественно окислительных, так и в преимущественно гликолитических мышцах [69, 70]. При этом у всех опытных животных базальная экспрессия генов-регуляторов биогенеза митохондрий была значительно ниже, чем у животных дикого типа как в смешанной (*m. quadriceps femoris*), так и в гликолитической (*m. gastrocnemius*) мышцах [67–70]. В отличие от мутантов, экспрессирующих укороченный PGC-1 α , у животных с полным отсутствием активности белка PGC-1 α снижалась температура тела при экспозиции на холоде [68], что можно объяснить подавлением экспрессии гена *UCP1*, регулируемой PGC-1 α , в буром жире. Таким образом, сопоставляя результаты различных исследований, можно сделать вывод о существовании функциональных отличий между укороченными и полноразмерными изоформами PGC-1 α .

До сих пор мы рассматривали влияние аэробных нагрузок на экспрессию изоформ PGC-1 α . В большинстве работ использовали именно аэробные нагрузки, активирующие биогенез митохондрий и ангиогенез в скелетной мышце, поэтому взаимосвязь между PGC-1 α и эффектами этих нагрузок представляется вполне логичной. Однако недавно Ruas и соавт. [52] показали, что одна из укороченных изоформ, NT-PGC-1 α -b (PGC-1 α 4 согласно [52]), может регулировать миогенез. В миотубах, сверхэкспрессирующих NT-PGC-1 α -b, содержание мРНК *IGF-1* и миогенных факторов Myf-5 и -6 было больше, а мРНК миостатина меньше, чем в контрольных клетках или клетках, сверхэкспрессирующих полноразмерный PGC-1 α -a. В то же время увеличение экспрессии генов-регуляторов биогенеза митохондрий в этих миотубах было значительно менее выражено, чем в миотубах со сверхэкспрессией полноразмерного PGC-1 α -a. Обнаружено, что NT-изоформа белка PGC-1 α , как и его полноразмерный вариант, локализуется преимущественно в ядре, что не согласуется с полученными ранее результатами [58, 59]. Введение в скелетную мышцу мыши аденовирусного и плазмидного векторов, несущих NT-PGC-1 α -b, привело к выраженному увеличению площади поперечного сечения мышечных волокон, а также массы мышц по сравнению с контролем. Любопытно отметить, что в случае электропорации скелетной мышцы плазидами, кодирующими NT-PGC-1 α -a, которая экспрессируется с канонического промотора, укороченный белок не был получен (несмотря на увеличение содержания мРНК). Сделан вывод, что N-концевая последовательность NT-PGC-1 α -b обеспечивает накопление этого белка в клетке, тогда как NT-PGC-1 α -a такой особенностью не обладает [52]. Этот вывод не согласуется с результатами работы, согласно которой в миоту-

бах, инфицированных аденовирусом, кодирующим *NT-PGC-1 α -a*, повышено содержание укороченной изоформы белка [63]. Физиологические эффекты *NT-PGC-1 α -b* изучали с использованием трансгенных мышцей, сверхэкспрессирующих эту изоформу. У трансгенных животных наблюдалось небольшое увеличение экспрессии мРНК *VEGFA*, *EER α* и миоглобина, снижение экспрессии миостатина и отсутствие изменений в экспрессии мРНК *IGF* и генов, регулирующих биогенез митохондрий, по сравнению с контролем [52, 63]. При этом площадь поперечного сечения мышечных волокон, масса мышц, мышечная сила и время бега до отказа в тесте на бегущей дороге были несколько больше, чем у контрольных животных [52]. В этой работе не изучали влияние однократной нагрузки на изменение экспрессии мРНК *NT-PGC-1 α -b*, но было показано, что базальный уровень экспрессии этого транскрипта в скелетных мышцах людей увеличивается после 8 недель силовых тренировок и не изменяется после 8 недель аэробных тренировок [52]. Следует отметить, что в этом исследовании для детекции *NT-PGC-1 α -b* использовали праймеры, комплементарные экзонам 5 и 7а, которые могут выявлять не только *NT-PGC-1 α -b*, но и *NT-PGC-1 α -a*. Недавно показали, что однократные силовые упражнения, так же как и аэробные, увеличивают экспрессию обеих этих изоформ в скелетных мышцах человека [51], поэтому нет уверенности, что длительная силовая тренировка в исследовании Ruas и соавт. [52] привела к увеличению базальной экспрессии *NT-PGC-1 α -b*, а не *NT-PGC-1 α -a*.

Влияние изоформ *PGC-1 α* на гипертрофию скелетных мышц оценивали на модели с удалением мышц-синергистов [71]. В гипертрофированных мышцах отмечено увеличение абсолютного уровня фосфорилирования мишеней *mTORC1*, экспрессии мРНК *IGF-1* и снижение экспрессии мРНК миостатина. При этом в гипертрофированных мышцах экспрессия изоформ *PGC-1 α* с альтернативного (*PGC-1 α -b* и *NT-PGC-1 α -b*, праймеры к экзонам 1b и 2) и канонического (*PGC-1 α -a* и *NT-PGC-1 α -a*, праймеры к экзонам 1a и 2) промоторов оказалась сниженной, так же как содержание и активность ключевых митохондриальных белков и экспрессия генов-мишеней *PGC-1 α* , регулирующих окислительные реакции и углеводно-жировой обмен. В скелетных мышцах мышцей с нокаутом гена *PGC-1 α* , как и у мышцей дикого типа, в ответ на удаление синергистов наблюдалось сопоставимое увеличение объема мышцей, абсолютного уровня фосфорилирования мишеней *mTORC1*, экспрессии мРНК *IGF-1* и снижение экспрессии мРНК миостатина. Сделан вывод, что *PGC-1 α* не вовлечен в ремоделирование скелетной мышцей, вызванное хрониче-

ской нагрузкой. Этот вывод косвенно согласуется с тем, что в скелетных мышцах мышцей экспрессия мРНК *NT-PGC-1 α -b* регулируется теми же стимулами, что и полноразмерной изоформы *PGC-1 α -b*, а именно, значительно возрастает при увеличении интенсивности аэробной нагрузки и при активации β 2-адренорецепторов с помощью кленбутерола [62]. Подводя итог сказанному, необходимо отметить, что механизмы регуляции синтеза белка в скелетной мышцей различными изоформами *PGC-1 α* не ясны и требуют дополнительных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Белок-коактиватор *PGC-1 α* является ключевым регулятором биогенеза митохондрий и углеводно-жирового обмена. Исследования *in vitro* и *in vivo* показывают, что в скелетных мышцах грызунов и человека могут экспрессироваться несколько изоформ мРНК *PGC-1 α* , при этом паттерн их экспрессии может значительно изменяться после физических нагрузок. Это связано с тем, что в регуляции экспрессии с разных промоторов гена *PGC-1 α* участвуют различные сигнальные каскады, активируемые разными физиологическими стимулами. По-видимому, экспрессия с канонического (проксимального) промотора регулируется, главным образом, через активацию АМПК, а с альтернативного – через β 2-адренорецепторы. Функциональные свойства белков, продуктов экспрессии с разных промоторов, скорее всего, не отличаются. Поэтому существование двух сигнальных путей, регулирующих экспрессию гена *PGC-1 α* , предоставляет большие возможности для фармакологического воздействия на экспрессию этого гена. Это может иметь важное значение для лечения и профилактики различных заболеваний.

Все полноразмерные транскрипты, экспрессирующиеся как с канонического, так и с альтернативного промоторов, подвергаются сплайсингу. В результате этого синтезируются укороченные изоформы, свойства которых отличны от свойств полноразмерных изоформ. Укороченные изоформы значительно более устойчивы к деградации и преимущественно регулируют ангиогенез, тогда как полноразмерные изоформы – преимущественно биогенез митохондрий. Опубликовано сообщение [52] о том, что укороченные изоформы, в отличие от полноразмерных, могут участвовать в регуляции миогенеза, но эти данные требуют дополнительной проверки. Можно заключить, что существование нескольких изоформ *PGC-1 α* с широким спектром функциональных свойств расширяет способность организма адаптироваться к различным физиологическим воздействиям.

В регуляции экспрессии *PGC-1 α* в скелетных мышцах человека остается много неясного. Изучение

особенностей регуляции экспрессии различных изоформ и их функциональной роли может дать уникальную возможность целенаправленно влиять на экспрессию тех или иных изоформ с помощью физических упражнений и/или фармакологических средств. Такая возможность важна для больных

метаболическим синдромом, сахарным диабетом и, возможно, для спортсменов, тренирующих аэробные возможности. ●

Работа поддержана Российским научным фондом (грант № 14-15-00768).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pedersen B.K., Febbraio M.A. // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2012. V. 8. № 8. P. 457–465.
2. Miura S., Kai Y., Kamei Y., Ezaki O. // *Endocrinology.* 2008. V. 149. № 9. P. 4527–4533.
3. Zhang Y., Huypens P., Adamson A.W., Chang J.S., Henagan T.M., Boudreau A., Lenard N.R., Burk D., Klein J., Perwitz N., et al. // *J. Biol. Chem.* 2009. V. 284. № 47. P. 32813–32826.
4. Egan B., Carson B.P., Garcia-Roves P.M., Chibalin A.V., Sarsfield F.M., Barron N., McCaffrey N., Moyna N.M., Zierath J.R., O’Gorman D.J. // *J. Physiol.* 2010. V. 588. № 10. P. 1779–1790.
5. Brenmoehl J., Hoeflich A. // *Mitochondrion.* 2013. V. 13. № 6. P. 755–761.
6. Wright D.C., Han D.H., Garcia-Roves P.M., Geiger P.C., Jones T.E., Holloszy J.O. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 1. P. 194–199.
7. Safdar A., Little J.P., Stokl A.J., Hettinga B.P., Akhtar M., Tarnopolsky M.A. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. № 12. P. 10605–10617.
8. Little J.P., Safdar A., Cermak N., Tarnopolsky M.A., Gibala M.J. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2010. V. 298. № 4. P. R912–R917.
9. Little J.P., Safdar A., Bishop D., Tarnopolsky M.A., Gibala M.J. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2011. V. 300. № 6. P. R1303–R1310.
10. McGee S.L., Howlett K.F., Starkie R.L., Cameron-Smith D., Kemp B.E., Hargreaves M. // *Diabetes.* 2003. V. 52. № 4. P. 926–928.
11. McGee S.L., Hargreaves M. // *Diabetes.* 2004. V. 53. № 5. P. 1208–1214.
12. Handschin C., Rhee J., Lin J., Tarr P.T., Spiegelman B.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. № 12. P. 7111–7116.
13. Dumke C.L., Mark D.J., Angela M.E., Nieman D.C., Carmichael M.D., Quindry J.C., Travis T.N., Utter A.C., Gross Gowan S.J., Henson D.A., et al. // *Eur. J. Appl. Physiol.* 2009. V. 107. № 4. P. 419–427.
14. Olesen J., Kiilerich K., Pilegaard H. // *Pflugers Arch.* 2010. V. 460. № 1. P. 153–162.
15. Scarpulla R.C. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008. V. 1147. P. 321–334.
16. Litonin D., Sologub M., Shi Y., Savkina M., Anikin M., Falkenberg M., Gustafsson C.M., Temiakov D. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. № 24. P. 18129–18133.
17. Smith B.K., Mukai K., Lally J.S., Maher A.C., Gurd B.J., Heigenhauser G.J., Spriet L.L., Holloway G.P. // *J. Physiol.* 2013. V. 591. № 6. P. 1551–1561.
18. Aquilano K., Vigilanza P., Baldelli S., Pagliari B., Rotilio G., Ciriolo M.R. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. № 28. P. 21590–21599.
19. Arany Z., Foo S.Y., Ma Y., Ruas J.L., Bommi-Reddy A., Girnun G., Cooper M., Laznik D., Chinsomboon J., Rangwala S.M., et al. // *Nature.* 2008. V. 451. № 7181. P. 1008–1012.
20. Chinsomboon J., Ruas J., Gupta R.K., Thom R., Shoag J., Rowe G.C., Sawada N., Raghuram S., Arany Z. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. № 50. P. 21401–21406.
21. Rowe G.C., Raghuram S., Jang C., Nagy J.A., Patten I.S., Goyal A., Chan M.C., Liu L.X., Jiang A., Spokes K.C., et al. // *Circ. Res.* 2014. V. 115. № 5. P. 504–517.
22. Puigserver P., Wu Z., Park C.W., Graves R., Wright M., Spiegelman B.M. // *Cell.* 1998. V. 92. № 6. P. 829–839.
23. Esterbauer H., Oberkofler H., Krempler F., Patsch W. // *Genomics.* 1999. V. 62. № 1. P. 98–102.
24. Czubryt M.P., McAnally J., Fishman G.I., Olson E.N. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. V. 100. № 4. P. 1711–1716.
25. Akimoto T., Li P., Yan Z. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2008. V. 295. № 1. P. C288–C292.
26. Lu J., McKinsey T.A., Nicol R.L., Olson E.N. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 8. P. 4070–4075.
27. McGee S.L., Fairlie E., Garnham A.P., Hargreaves M. // *J. Physiol.* 2009. V. 587. № 24. P. 5951–5958.
28. Hook S.S., Means A.R. // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2001. V. 41. P. 471–505.
29. Corton J.M., Gillespie J.G., Hardie D.G. // *Curr. Biol.* 1994. V. 4. № 4. P. 315–324.
30. Chen Z.P., Stephens T.J., Murthy S., Canny B.J., Hargreaves M., Witters L.A., Kemp B.E., McConell G.K. // *Diabetes.* 2003. V. 52. № 9. P. 2205–2212.
31. Fujii N., Hayashi T., Hirshman M.F., Smith J.T., Habinowski S.A., Kaijser L., Mu J., Ljungqvist O., Birnbaum M.J., Witters L.A., et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. V. 273. № 3. P. 1150–1155.
32. Rose A.J., Kiens B., Richter E.A. // *J. Physiol.* 2006. V. 574. № 3. P. 889–903.
33. Sriwijitkamol A., Coletta D.K., Wajsborg E., Balbontin G.B., Reyna S.M., Barrientes J., Eagan P.A., Jenkinson C.P., Cersosimo E., DeFronzo R.A., et al. // *Diabetes.* 2007. V. 56. № 3. P. 836–848.
34. Rasmussen B.B., Winder W.W. // *J. Appl. Physiol.* 1997. V. 83. № 4. P. 1104–1109.
35. Shaywitz A.J., Greenberg M.E. // *Annu. Rev. Biochem.* 1999. V. 68. P. 821–861.
36. Thomson D.M., Herway S.T., Fillmore N., Kim H., Brown J.D., Barrow J.R., Winder W.W. // *J. Appl. Physiol.* 2008. V. 104. № 2. P. 429–438.
37. Zhang Y., Ugucioni G., Ljubovic V., Irrcher I., Iqbal S., Singh K., Ding S., Hood D.A. // *Physiol. Rep.* 2014. V. 2. e12008.
38. Akimoto T., Pohnert S.C., Li P., Zhang M., Gumbs C., Rosenberg P.B., Williams R.S., Yan Z. // *J. Biol. Chem.* 2005. V. 280. № 20. P. 19587–19593.
39. Wright D.C., Geiger P.C., Han D.H., Jones T.E., Holloszy J.O. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 26. P. 18793–18799.
40. Widegren U., Jiang X.J., Krook A., Chibalin A.V., Bjornholm M., Tally M., Roth R.A., Henriksson J., Wallberg-Henriksson H., Zierath J.R. // *FASEB J.* 1998. V. 12. № 13. P. 1379–1389.
41. Nordsborg N.B., Lundby C., Leick L., Pilegaard H. // *Med. Sci. Sports Exerc.* 2010. V. 42. № 8. P. 1477–1484.
42. Popov D., Zinovkin R., Karger E., Tarasova O., Vinogradova O. // *J. Sports Med. Phys. Fitness.* 2014. V. 54. P. 362–369.

43. Edgett B.A., Foster W.S., Hankinson P.B., Simpson C.A., Little J.P., Graham R.B., Gurd B.J. // *PLoS One*. 2013. V. 8. № 8. e71623.
44. Yoshioka T., Inagaki K., Noguchi T., Sakai M., Ogawa W., Hosooka T., Iguchi H., Watanabe E., Matsuki Y., Hiramatsu R., et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009. V. 381. № 4. P. 537–543.
45. Soyat S.M., Felder T.K., Auer S., Hahne P., Oberkofler H., Witting A., Paulmichl M., Landwehrmeyer G.B., Weydt P., Patsch W. // *Hum. Mol. Genet.* 2012. V. 21. № 15. P. 3461–3473.
46. Felder T.K., Soyat S.M., Oberkofler H., Hahne P., Auer S., Weiss R., Gadermaier G., Miller K., Krempler F., Esterbauer H., et al. // *J. Biol. Chem.* 2011. V. 286. № 50. P. 42923–42936.
47. Miura S., Kawanaka K., Kai Y., Tamura M., Goto M., Shiuchi T., Minokoshi Y., Ezaki O. // *Endocrinology*. 2007. V. 148. № 7. P. 3441–3448.
48. Tadaishi M., Miura S., Kai Y., Kawasaki E., Koshinaka K., Kawanaka K., Nagata J., Oishi Y., Ezaki O. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2011. V. 300. № 2. P. E341–E349.
49. Norrbom J., Sallstedt E.K., Fischer H., Sundberg C.J., Rundqvist H., Gustafsson T. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2011. V. 301. № 6. P. E1092–E1098.
50. Popov D.V., Bachinin A.V., Lysenko E.A., Miller T.F., Vinogradova O.L. // *J. Physiol. Sci.* 2014. V. 64. № 5. P. 317–323.
51. Ydfors M., Fischer H., Mascher H., Blomstrand E., Norrbom J., Gustafsson T. // *Physiol. Rep.* 2013. V. 1. № 6. e00140.
52. Ruas J.L., White J.P., Rao R.R., Kleiner S., Brannan K.T., Harrison B.C., Greene N.P., Wu J., Estall J.L., Irving B.A., et al. // *Cell*. 2012. V. 151. № 6. P. 1319–1331.
53. Tadaishi M., Miura S., Kai Y., Kano Y., Oishi Y., Ezaki O. // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 12. e28290.
54. Chang J.S., Fernand V., Zhang Y., Shin J., Jun H.J., Joshi Y., Gettys T.W. // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. № 12. P. 9100–9111.
55. Kim S.H., Asaka M., Higashida K., Takahashi Y., Holloszy J.O., Han D.H. // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2013. V. 304. № 8. P. E844–E852.
56. Frier B.C., Wan Z., Williams D.B., Stefanson A.L., Wright D.C. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2012. V. 302. № 12. P. C1772–C1779.
57. Baar K., Wende A.R., Jones T.E., Marison M., Nolte L.A., Chen M., Kelly D.P., Holloszy J.O. // *FASEB J.* 2002. V. 16. № 14. P. 1879–1886.
58. Chang J.S., Huypens P., Zhang Y., Black C., Kralli A., Gettys T.W. // *J. Biol. Chem.* 2010. V. 285. № 23. P. 18039–18050.
59. Shen T., Liu Y., Schneider M.F. // *J. Biomed. Biotechnol.* 2012. V. 2012. P. 989263.
60. Sano M., Tokudome S., Shimizu N., Yoshikawa N., Ogawa C., Shirakawa K., Endo J., Katayama T., Yuasa S., Ieda M., et al. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 35. P. 25970–25980.
61. Olson B.L., Hock M.B., Ekholm-Reed S., Wohlschlegel J.A., Dev K.K., Kralli A., Reed S.I. // *Genes Dev.* 2008. V. 22. № 2. P. 252–264.
62. Wen X., Wu J., Chang J.S., Zhang P., Wang J., Zhang Y., Gettys T.W., Zhang Y. // *Biomed. Res. Int.* 2014. V. 2014. e 402175.
63. Thom R., Rowe G.C., Jang C., Safdar A., Arany Z. // *J. Biol. Chem.* 2014. V. 289. P. 8810–8817.
64. Jun H.J., Gettys T.W., Chang J.S. // *PPAR. Res.* 2012. V. 2012. e320454.
65. Leone T.C., Lehman J.J., Finck B.N., Schaeffer P.J., Wende A.R., Boudina S., Courtois M., Wozniak D.F., Sambandam N., Bernal-Mizrachi C., et al. // *PLoS Biol.* 2005. V. 3. № 4. e101.
66. Jun H.J., Joshi Y., Patil Y., Noland R.C., Chang J.S. // *Diabetes*. 2014. V. 63. № 11. P. 3615–3625.
67. Arany Z., He H., Lin J., Hoyer K., Handschin C., Toka O., Ahmad F., Matsui T., Chin S., Wu P.H., et al. // *Cell Metab.* 2005. V. 1. № 4. P. 259–271.
68. Lin J., Wu P.H., Tarr P.T., Lindenberg K.S., St-Pierre J., Zhang C.Y., Mootha V.K., Jager S., Vianna C.R., Reznick R.M., et al. // *Cell*. 2004. V. 119. № 1. P. 121–135.
69. Handschin C., Choi C.S., Chin S., Kim S., Kawamori D., Kurpad A.J., Neubauer N., Hu J., Mootha V.K., Kim Y.B., et al. // *J. Clin. Invest.* 2007. V. 117. № 11. P. 3463–3474.
70. Handschin C., Chin S., Li P., Liu F., Maratos-Flier E., LeBrasseur N.K., Yan Z., Spiegelman B.M. // *J. Biol. Chem.* 2007. V. 282. № 41. P. 30014–30021.
71. Perez-Schindler J., Summermatter S., Santos G., Zorzato F., Handschin C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013. V. 110. № 50. P. 20314–20319.