УДК 575.113/118: 577.115/121: 681.325

Н.А. Колчанов, М.И. Воевода, Т.Н. Кузнецова, В.А. Мордвинов, Е.В. Игнатьева

ГЕННЫЕ СЕТИ ЛИПИДНОГО МЕТАБОЛИЗМА

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск
ГУ НИИ терапии СО РАМН, Новосибирск

Цель данного исследования — анализ организации и механизмов регуляции и функционирования генных сетей, контролирующих липидный метаболизм в клетках эукариот. Генные сети липидного метаболизма были реконструированы с использованием компьютерной технологии GeneNet. В результате анализа сетей регуляции внутриклеточного уровня холестерина в гепатоцитах и липидного метаболизма в адипоцитах показано, что к числу ключевых регуляторов экспрессии генов липидного метаболизма относятся транскрипционные факторы семейства SREBP и фактор PPARγ. Активность факторов семейства SREBP контролируется по принципу обратной связи: чем выше концентрация холестерина, тем ниже активность SREBP. Фактор PPARγ активируется лигандами, к числу которых относятся жирные кислоты. В число генов из генной сети адипоцита, регулируемых факторами PPARγ, входят гены 1) белков, осуществляющих транспорт жирных кислот, 2) белков LXRα и INSIG-1, регуляторов экспрессии и созревания транскрипционного фактора SREBP-1c; 3) фермента PEPCK-C. Накопленные данные создают базу для направленных экспериментальных работ, посвященных поиску целей для регуляции липидного метаболизма в клетках эукариот. Обобщена информация о полиморфизмах в генах, входящих в генные сети липидного метаболизма. Данные полиморфизмы обуславливают разные функциональные проявления экспрессии генов, в том числе и патологические. Установлено, что функционально важные полиморфизмы могут быть локализованы как в кодирующих, так и в некодирующих районах генов. Сделан вывод о том, что синтез информации о структурно-функциональной организации генных сетей и данных об известных генных полиморфизмах и их биологических эффектах является необходимым этапом в исследовании генетических механизмов, определяющих формирование фенотипов, к числу которых относится и предрасположенность к наиболее распространенным заболеваниям.

Ключевые слова: липидный метаболизм, генные сети

1. Введение

Развитие современных высокоэффективных исследовательских технологий сопровождается накоплением беспрецедентных объемов экспериментальных данных. Осмысливание и использование этих экспериментальных данных принципиально невозможно без системного подхода и привлечения современных информационно-компьютерных технологий и эффективных математических методов анализа данных и моделирования биологических систем и процессов. В ответ на эту острую потребность возникла новая наука — постгеномная биоинформатика, или системная компьютерная биология. Одним из центральных объектов изучения системной биологии являются генные сети.

Генные сети — группы координированно функционирующих генов, обеспечивающих формирование фенотипических признаков организмов (молекулярных, биохимических, физиологических, морфологических, поведенческих и т.д.) [1, 2, 3]. Обязательными компонентами любой генной сети являются: гены, кодируемые ими РНК, белки, метаболиты, пути передачи сигналов, метаболические пути, регуляторные контуры с положительными и отрицательными обратными связями. В научной литературе опубликовано более 1 миллиона статей по различным аспектам организации и функционирования генных сетей. Однако лишь из 5-7% статей информация введена в базы данных. Возникает острейшая необходимость создания компьютерных технологий, позволяющих реконструировать генные сети на основе суммирования экспериментальных данных из научных публикаций, а также из различных типов высокопроизводительных экспериментальных подходов, например ДНК-чипов. Такая компьютерная технология была реализована нами в компьютерной базе данных GeneNet. [1, 3, 31, 32]. В настоящее время база данных GeneNet содержит описание 37 генных сетей, контролирующих выполнение различных функций организмов.

Целью настоящей работы является рассмотрение принципов организации генных сетей, обес-

печивающих регуляцию липидного метаболизма в клетках эукариот.

2. Технология реконструкции генных сетей GeneNet

Система GeneNet позволяет осуществлять реконструкцию генных сетей человека, животных, растений, микроорганизмов на основе аннотации экспериментальных данных. GeneNet обеспечивает интеграцию гетерогенных экспериментальных данных, получаемых методами структурной и функциональной геномики, транскриптомики, протеомики, метаболомики, а также с помощью других технологий современной биологии. Методы реконструкции генных сетей описаны нами в предыдущих статьях [3, 32].

Все объекты в базе данных GeneNet разделены на два основных класса: 1) элементарные структурные компоненты и 2) элементарные взаимодействия между этими компонентами. Элементарными структурными компонентами являются гены, РНК, белки, а также небелковые молекулы, распределенные по различным компартментам клетки (или организма). Взаимодействия между элементарными структурами включают реакции и регуляторные события разного типа. Система GeneNet позволяет создавать интерактивные графические карты взаимодействий белков и генов, а также проводить логический анализ накопленной информации. Примеры графического представления элементарных структур и событий в системе GeneNet представлены на *рисунке 1*.

3. Жировая ткань и липидный метаболизм

Система регуляции липидного метаболизма обеспечивает жизненно важные функции организма и тесно связана с углеводным обменом. Известен целый комплекс заболеваний, причиной которых являются нарушения липидного и углеводного обменов, который обозначается «метаболический синдром X». В это понятие входят такие факторы, как избыточная масса тела, гиперинсулинемии, нарушение толерантности к глюкозе, изменения липидного состава крови [65]. «Метаболический синдром X» является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний — атеросклероза, гипертонии ишемической болезни сердца. [48]. На *рисунке 2* схематично представлены некоторые функциональные последствия увеличения массы жировой ткани, фактора, повышающего риск развития атеросклероза.

Вследствие увеличения массы и/или патологических изменений жировой ткани происходит повышение секреции свободных жирных кислот (СЖК) и ряда регуляторных молекул (TNFα,

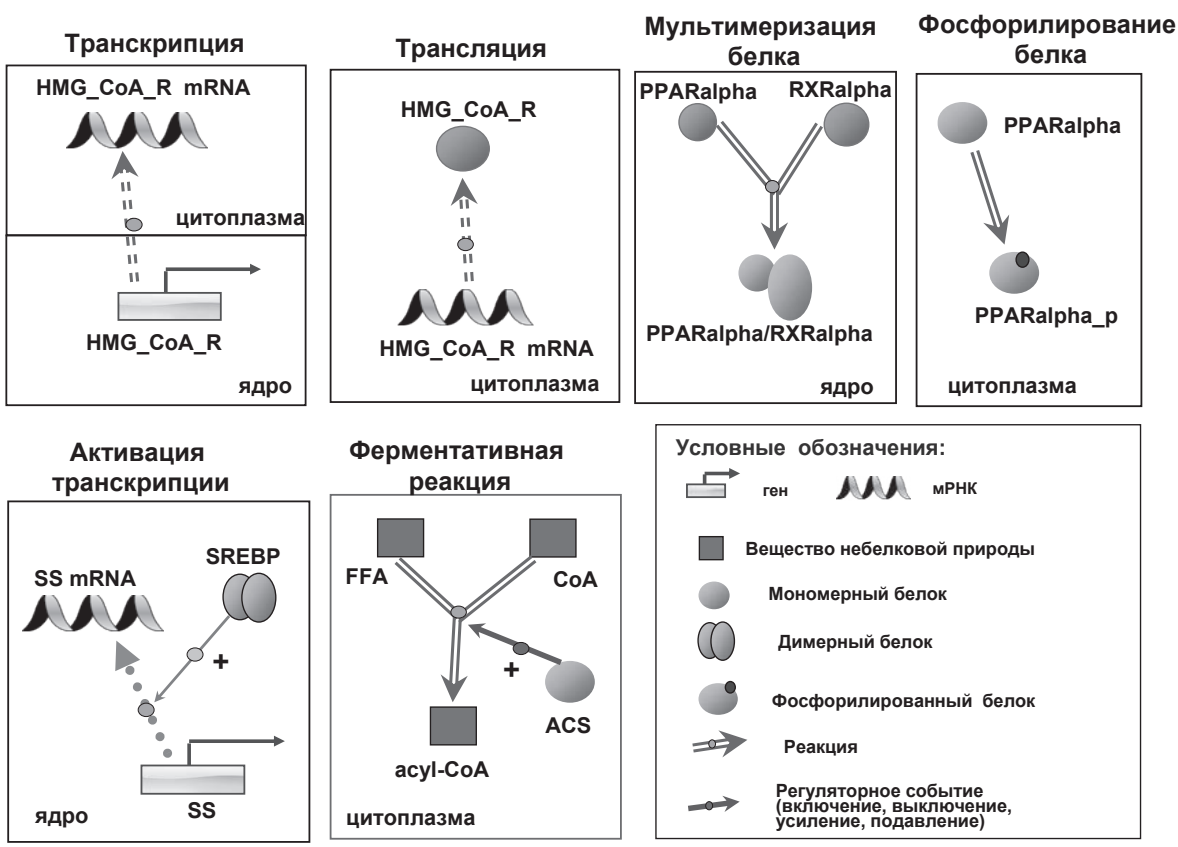

Рис. 1. **База данных GENENET: примеры графического представления элементарных структур и событий**

IL-6, PAI-1, ангиотензиногена и др.), что приводит к нарушению липидного обмена и метаболических процессов в организме [24, 77].

Хроническое увеличение плазматического уровня СЖК, наблюдаемое при ожирении, может, наравне с высоким уровнем глюкозы, нарушить продукцию инсулина бета-клетками поджелудочной железы [19, 26, 66] и даже способствовать апоптозу этих клеток [18, 27]. Кроме того, повышенный уровень СЖК в плазме способствует увеличению внутриклеточного пула СЖК в гепатоцитах и, как следствие, усиленной продукции липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) этими клетками [24]. В крови липопротеины очень низкой плотности катаболизируются, обогащая холестерином и его эфирами другие фракции липопротеиновых частиц. Вследствие этого повышается содержание липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), наиболее атерогенной фракции липопротеинов крови. Именно ЛПНП наиболее интенсивно инфильтруются в стенку кровеносных сосудов и окисляются, образуя окисленные ЛПНП (окЛПНП). Поскольку окисленные частицы ЛПНП поглощаются макрофагами, их избыточное количество приводит к перерождению макрофагов в пенистые клетки, и это является первым этапом формирования атеросклеротической бляшки [75]. К числу атерогенных эффектов окисленных ЛПНП относятся также: повреждение клеток эндотелия; повреждение гладкомышечных клеток; стимуляция моноцитов; подавление обратного транспорта макрофагов в кровеносное русло [75].

Другим эффектом избыточного накопления жирных кислот в различных тканях является развитие инсулинорезистентности и, как следствие, возникновение гипергликемии [7, 24].

Известно, что адипоциты секретируют значительное число регуляторных молекул, включая эндокринные, паракринные и аутокринные факторы [77]. Увеличение уровня продукции адипоцитами TNFα, IL-6 может стимулировать, в частности, развитие воспалительного процесса и изменения в сосудистой стенке [36], а также инсулинорезистентности в инсулинчувствительных тканях [46, 68]. Показано, что жировые клетки секретируют моноцитарный хемотаксический фактор-1 (MCP-1) и макрофаг-колониестимулирующий фактор (M-CSF) [69, 70], которые являются важными регуляторами развития и активности моноцитов/макрофагов. Кроме того, M-CSF оказывает влияние на развитие атером, стимулируя образование пенистых клеток и, как следствие, склеротизацию сосудов [36, 38].

Среди других факторов, секретируемых адипоцитами и вовлеченных в патогенез атеросклероза, можно отметить ингибитор тканевых активаторов плазминогена (PAI-1) [43] и ангиотензиноген (AGT), предшественник ангиотензина 2 (AngII) [77]. Хотя жировая ткань не единственный источник секреции данных факторов, вклад адипоцитов в плазматический уровень PAI-1 и AngII становится более значимым при ожирении, что может способствовать развитию тромбоэмболии и гипертонии [9, 13, 73].

Диабет 2-го типа является серьезным фактором риска развития атеросклероза. Ряд перечис-

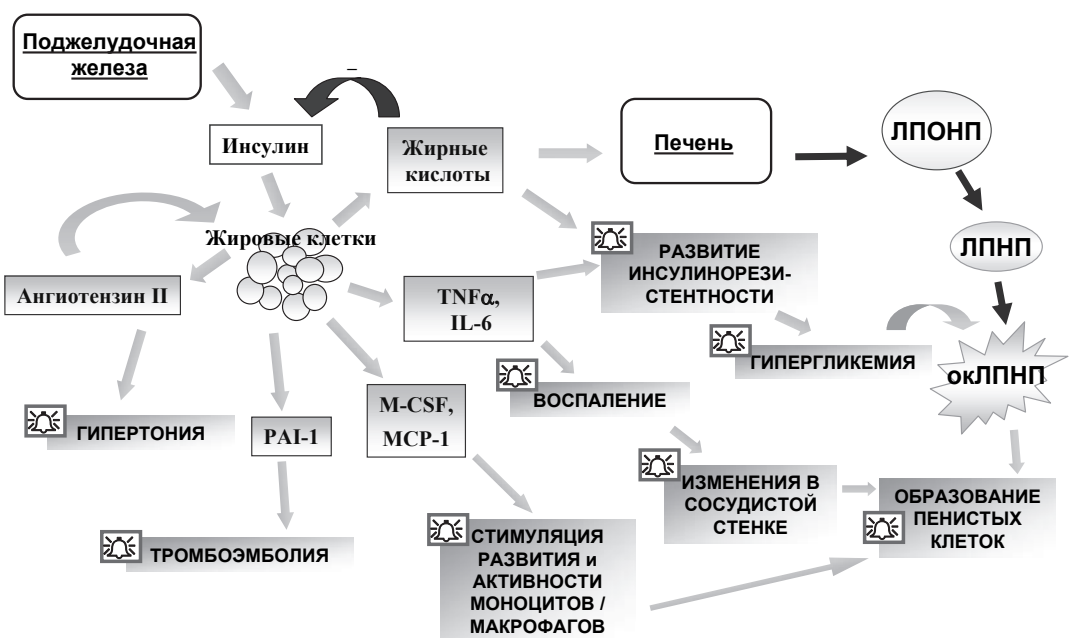

Рис. 2. **Функциональные последствия увеличения массы жировой ткани**

ленных выше секретируемых адипоцитами факторов (MCP-1, M-CSF, PAI-1) экспрессируется в ответ на инсулин как в нормальных, так и инсулинорезистентных адипоцитах [43, 69, 70]. Таким образом, при гиперинсулинемии, которая типична для диабета 2-го типа, повышенная секреция этих факторов может осложнять течение заболевания и способствовать склеротизации сосудов. Кроме того, повышенный уровень глюкозы в крови у больных диабетом провоцирует окисление частиц ЛПНП [35]. Накопление окЛПНП, как уже упоминалось выше, инициирует формирование атеросклеротических бляшек.

4. Генная сеть регуляции уровня холестерина

Основными липидными компонентами окисленных ЛПОН комплексов, во многом обуславливающих развитие атеросклеротических бляшек, являются холестерин и его эфиры, жиры (триацилгилцеролы) и фосфолипиды.

Повышение содержания окисленных ЛПНП может быть вызвано ростом интенсивности окислительных процессов и увеличением уровня компонентов, из которых образуются ЛПНП, в частности холестерина. На *рисунке 3* представлен фрагмент реконструированной нами генной сети регуляции внутриклеточного уровня холестерина в гепатоците. Показано, что уровень внутриклеточного холестерина определяется двумя процессами: биосинтезом с участием ферментов мевалонатного пути (HMGCoAS, HMGCoAR, FDFS, SS) и поступлением в клетку в составе частиц ЛПНП, осуществляемым с участием LDL рецептора (LDLR). Логический анализ генной сети показал, что ключевой регулятор экспрессии генов этой генной сети — транскрипционный фактор SREBP (sterol regulatory element binding protein), образующийся из предшественника — preSREBP [74]. Скорость перехода предшественника в активную форму зависит от концентрации холестерина, и при его высоком уровне эта реакция подавляется [21]. Таким образом, активность генов мевалонатного пути биосинтеза холестерина регулируется по механизму обратной связи: чем выше концентрация холестерина, тем ниже активность фактора SREBP. Таким же образом по механизму обратной связи регулируется и транскрипционная активность гена, кодирующего рецептор LDL, обеспечивающего транспорт ЛПНП в клетку.

Механизм, обеспечивающий регуляцию интенсивности перехода предшественника preSREBP в активную форму, SREBP, в зависимости от уровня холестерина в клетке («холестериновый сенсор»), представлен на *рисунке 4* [34]. В реализации механизма участвуют несколько белков: INSIG, SCAP и протеазы S1P и S2P. Фактор SREBP нарабатывается в клетке в форме предшественника preSREB. Неактивный предшественник preSREBP накапливается в мембранах эндоплазматического ретикулума в комплексе с белком SCAP.

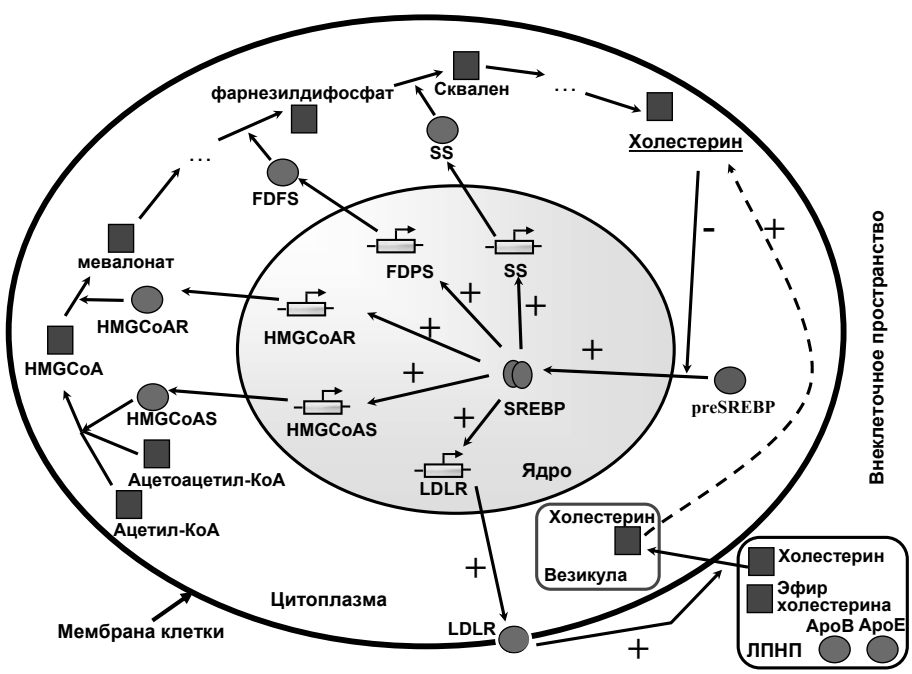

Рис. 3. **Фрагмент генной сети регуляции внутриклеточного уровня холестерина в гепатоците.**
Обозначения для генов и белков: SREBP — транскрипционный фактор sterol regulatory element binding protein; preSREBP — предшественник фактора SREBP; HMGCoAS — ГМГ-КоА-синтетаза; HMGCoAR — ГМГ-КоА-редуктаза; FDFS ––фарнезил-дифосфат-синтетаза; SS — сквален-синтетаза; LDLR — рецептор частиц ЛПНП; ApoB — аполипопротеин B; ApoE — аполипопротеин E.

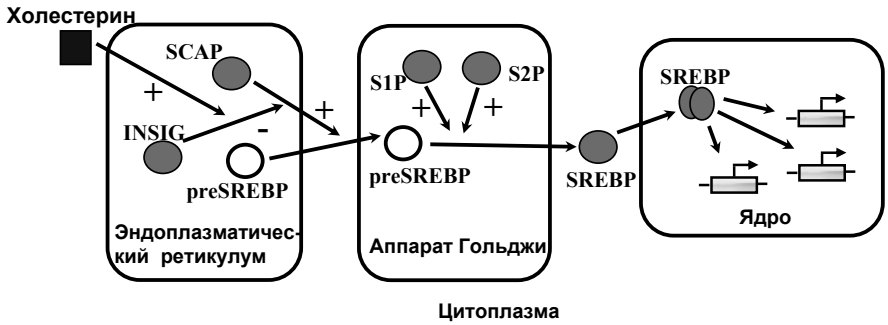

Рис. 4. **Фрагмент генной сети, описывающий устройство «холестеринового сенсора»**
Обозначения белков: INSIG — Insulin-induced protein, SCAP — Sterol regulatory element binding protein cleavage-activating protein; S1P — Site-1 protease; S2P — Site-2 protease

В условиях, когда уровень холестерина невысок, белок SCAP обеспечивает транспорт белка preSREBP в аппарат Гольджи, где происходит протеолитическое расщепление молекулы preSREBP с образованием активного белка SREBP. Активный SREBP проникает в ядро клетки и активирует экспрессию генов, контролирующих биосинтез холестерина и его поступление из внеклеточного пространства.

При повышении уровня холестерина в клетке выше нормы конформация мембранного белка SCAP изменяется, и это приводит к образованию устойчивого комплекса с мембранным белком INSIG. Тройной комплекс INSIG/SCAP/preSREBP прочно удерживается в мембранах эндоплазматического ретикулума, и это существенно замедляет транспорт preSREBP в аппарат Гольджи и его протеолитический процессинг.

5. Генная сеть адипоцита (общая характеристика)

Клетки жировой ткани (адипоциты) активно участвуют во многих физиологических процессах, связанных с энергетическим метаболизмом, включая и углеводный обмен. Основной функцией адипоцита является запасание энергии в форме жиров (триацилглицеролов). Триацилглицеролы синтезируются из глицерола и насыщенных или ненасыщенных жирных кислот, например пальмитата. Реконструированная нами генная сеть адипоцита содержит 107 генов, 240 белков и 80 метаболитов. Данные собраны на основе аннотации экспериментальных данных из 510 публикаций.

Ядро генной сети адипоцита *(Рис. 5)* включает метаболический путь биосинтеза жирных кислот, контролируемый следующими ферментами: ACC (acetyl-CoA-carboxylase), FAS (fatty acid synthase), ACS (acetyl-CoA synthetase), SCD (stearoyl-CoA desaturase). Чрезвычайно важным для функционирования адипоцита является процесс поглощения и утилизации глюкозы как источника энергии. Транспорт глюкозы в клетку происходит при участии мембранного переносчика GLUT4 (глюкозного транспортера 4) [55]. Далее глюкоза расщепляется в процессе гликолиза с образованием пирувата, который затем транспортируется в митохондрии. В митохондриях из пирувата образуется ацетил-КоА и оксалоацетат, которые затем метаболизируются в цикле Кребса. Цитрат, один из метаболитов, образующихся в реакциях цикла Кребса, транспортируется из митохондрий в цитоплазму. В цитоплазме цитрат снова превращается в ацетил-КоА в результате реакции, катализируемой ферментом АТФ-зависимой цитрат-лиазой (ACL). Таким образом, одним из продуктов метаболизма глюкозы в адипоцитах является ацетил-КоА, исходное соединение, из которого синтезируются жирные кислоты. Следовательно, активный транспорт глюкозы в адипоциты будет способствовать накоплению в них триацилглицеролов (жиров).

Важной функцией адипоцитов является секреция целого ряда сигнальных молекул *(Рисунки 2 и 5)*, таких как цитокины (TNFα, IL-6), а также гормоны либо их предшественники [50]. Эндокринная функция адипоцитов реализуется через продукцию компонентов ренин-ангиотензиновой системы и гормона лептина [50].

В адипоцитах синтезируются также все компоненты ренин-ангиотензиновой системы (RAS): ангиотензиноген (AGT), ренин (Ren), ангиотензин превращающий фактор (ACE) *(Рисунки 2 и 5)*. Наряду с этими белками адипоцит экспрессирует катепсины G и D (CTSD, CTSG), которые являются компонентами неренин-ангиотензиновой системы (NRAS) и осуществляют альтернативный путь образования ангиотензина II (Ang II), не требующий присутствия ренина [71].

Гормон лептин активно секретируется адипоцитами при избытке пищи и регулирует пищевое поведение [15]. В случае избытка пищи лептин нарабатывается в больших количествах *(Рис. 6)*. Он взаимодействует с рецепторами в аркуатных ядрах гипоталамуса, вслед за чем происходит

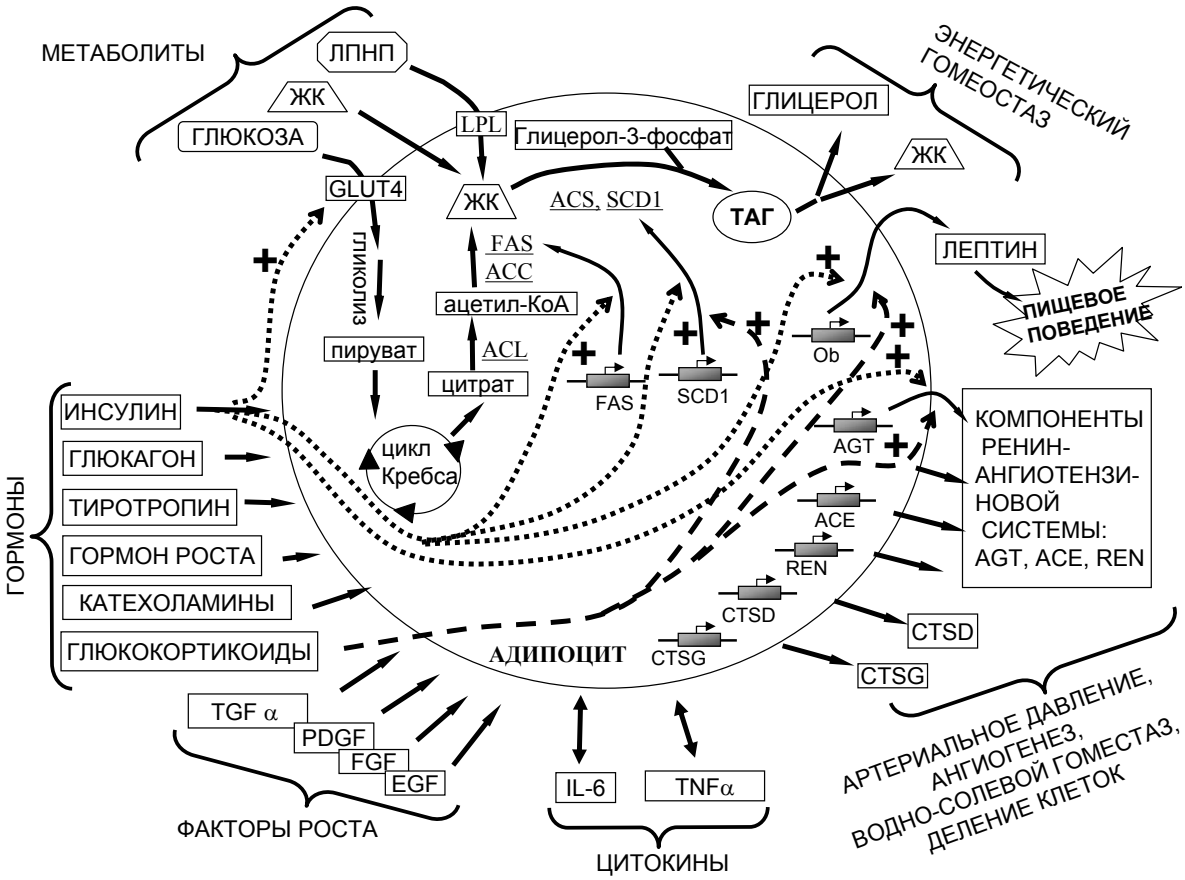

Рис. 5. **Схематическое представление функций генной сети адипоцита, его регуляции внешними факторами и генерации сигналов, координирующих функционирование генных сетей других процессов.**
ЖК — жирные кислоты, ТАГ — триацилглицеролы (жиры), ЛПНП — липопротеины низкой плотности, LPL — мембранный белок липопротеин-липаза, GLUT4 — мембранный белок глюкозный транспортер 4.

подавление продукции нейропептида Y (NP-Y), стимулирующего поиск пищи, а также стимуляция продукции проопиомеланокортина (POMC), производное которого (alpha MSH), подавляет пищевое поведение. Таким образом, в ответ на усиление продукции лептина жировыми клетками пищевое поведение угнетается [15]. При понижении потребления пищи *(Рис. 6)* масса жировых клеток снижается, и продукция лептина снижается. В этом случае происходит активация пищевого поведения, поскольку, во-первых, начинается активная продукция NP-Y, а во-вторых, снимается подавляющее влияние, которое опосредуется через alpha MSH и его рецептор.

Помимо упомянутых выше регуляторных факторов, в адипоцитах экспрессируются рецепторы ряда цитокинов (TNFα, IL-6), факторов роста (EGF, PDGF, FGF, TGFβ), рецепторы гормонов: тиротропина (TSH), ангиотензина II, глюкагона, инсулина, лептина, гормона роста, а также альфа и бета адренорецепторы [77]. Благодаря этому интенсивность синтеза триацилглицеролов и секреции лептина адипоцитами регулируется как метаболическими сигналами (поступлением глюкозы либо жирных кислот), так и гуморальными влияниями. Например, глюкокортикоиды стимулируют экспрессию гена стеароил-КоА-десатуразы (SCD1), участвующей в синтезе ненасыщенных жирных кислот *(Рис. 5)*, гена Ob, кодирующего гормон лептин (регулятор пищевого поведения), и гена ангиотензиногена (AGT), предшественника ангиотензина II. Инсулин стимулирует экспрессию генов синтетазы жирных кислот (FAS), осуществляющей биосинтез насыщенных жирных кислот, а также вышеназванных генов SCD1, Ob. Кроме того, инсулин активирует экспрессию вышеназванного гена AGT [44]. Помимо влияния на экспрессию генов, инсулин также активизирует транслокацию глюкозного транспортера GLUT4 из цитоплазмы на клеточную мембрану [45], вследствие чего активируется поступление глюкозы. Таким образом происходит тонкая подстройка всех функций адипоцита в зависимости от метаболического, иммунного и эндокринного статуса организма.

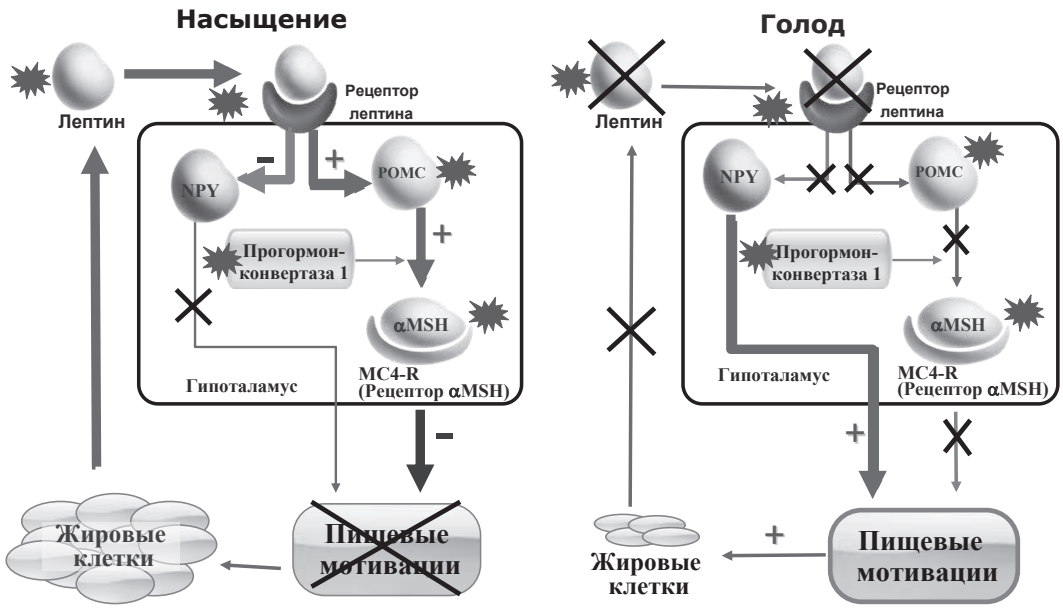

Рис. 6. **Схематическое представление существенных элементов путей передачи сигнала гормона лептина и мутации, вызывающие накопление избыточной массы тела (реконструкция по [Barsh G. et al., 2000]).**
NPY — нейропептид Y, aMSH — меланокортин, POMC — проопиомеланокортин;
звездочками отмечено наличие данных о мутациях в генах, связанных с предрасположенностью с избыточной массой тела.

6. Роль транскрипционных факторов PPARγ и SREBP-1c в координированной регуляция экспрессии генов в адипоцитах

Логический анализ генной сети адипоцита позволил выявить регуляторные связи, обеспечивающие координированную экспрессию генов. Одной из ситуаций, когда реализуется механизм, контролирующий координированную экспрессию генов, является повышение внутриклеточного уровня свободных жирных кислот (СЖК).

Увеличение уровня СЖК в жировой клетке возможно при активации одного из трех процессов: 1) транспорта СЖК из плазмы в клетку, 2) генерации СЖК *de novo* в процессе синтеза; 3) образования СЖК в результате гидролиза триацилглицеролов (липолиза) *(Рис. 7)*. Первый механизм повышения СЖК в адипоцитах реализуется при повышении их уровня в плазме крови. Второй - возможен при усиленном притоке глюкозы в клетку, поскольку продукты метаболизма глюкозы являются субстратами для синтеза жирных кислот. Третья ситуация, активация липолиза, имеет место в условиях голодания либо стресса.

Фрагмент генной сети регуляции внутриклеточного уровня жирных кислот представлен на *рисунке 7*. Экспрессия генов, продукты которых участвуют в регуляции уровня жирных кислот в адипоцитах, контролируется транскрипционными факторами PPARγ, SREBP-1c и LXRα.

Процесс биосинтеза жирных кислот находится под контролем белков, входящих в семейство транскрипционных факторов SREBP [72]. Как было упомянуто выше, факторы SREBP синтезируются в виде транскрипционно неактивных предшественников. Процессинг, обеспечивающий созревание SREBP до транскрипционно активной формы, негативно регулируется холестерином и белками INSIG (INSIG-1 и INSIG-2) [42, 80]. По отношению к другим членам семейства SREBP в адипоцитах наиболее представленной формой является SREBP-1c. Среди регулируемых SREBP-1c генов в адипоцитах идентифицированы некоторые гены ферментов, контролирующих синтез жирных кислот, например синтетаза жирных кислот (FAS) [53] и ацил-КоА карбоксилаза (ACC1) [64].

Следует отметить, что SREBP-1c способен стимулировать экспрессию PPARγ [63], транскрипционного фактора из суперсемейства ядерных рецепторов, который, как многие члены этого семейства, активируется лигандами [23]. В число эндогенных лигандов PPARγ входят жирные кислоты и эйкозаноиды [28]. Таким образом, повышение внутриклеточного уровня жирных кислот в результате активации биосинтеза *de novo* и/или поступления в клетку усиливает экспрессию генов, регулируемых транскрипционными факторами PPARγ. В число генов, регулируемых в адипоцитах факторами PPARγ, входят гены 1) белков, осуществляющих транспорт жирных кислот, 2) белков LXRα и INSIG-1, регуляторов экспрессии и созревания транскрипционного фактора SREBP-1c; 3) фермента PEPCK-C. К числу транспортных белков, экспрессия которых усиливается при активации факторов PPARγ, относятся FATP [29] и CD36 [76], которые участвуют

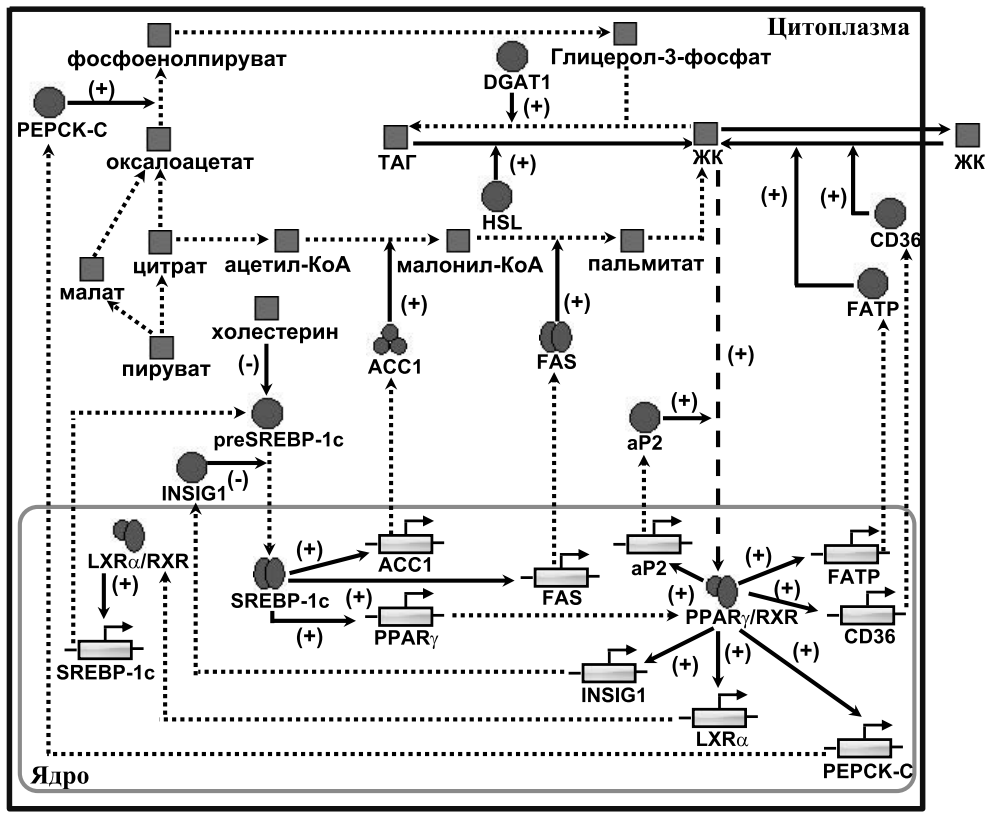

Рис. 7. **Координированная регуляция экспрессии генов, контролирующих внутриклеточный уровень жирных кислот в адипоцитах, под действием транскрипционных факторов PPARγ и SREBP-1c.**
Обозначения генов и белков: PPARγ — Peroxisome Proliferator Activated Receptor gamma (транскрипционный фактор); SREBP-1c — Sterol Regulatory Element Binding Protein 1c (транскрипционный фактор); LXRα — Liver X Receptor (транскрипционный фактор); LXRα/RXR — гетеродимер LXRα с ретиноидным Х-рецептором (Retinoid X Receptor (RXR)); INSIG1 — Insulin-induced gene 1 (регуляторный белок); FATP — Fatty Acid Transport Protein (транспортный белок); CD36 — транспортный белок CD36; aP2 (FABP4) — adipocyte protein P2 (Fatty acid-binding protein 4, adipocyte-specific)) (транспортный белок); PEPCK-C — Phosphoenolpyruvate carboxykinase, cytosolic (фермент); FAS — Fatty Acid Synthase (фермент); ACC1 — acetyl-CoA-carboxylase 1 (фермент); HSL — Hormone-Sensitive Lipase (фермент); DGAT1 — Diacylglycerol O-acyltransferase 1 (фермент); Обозначения низкомолекулярных соединений: ТАГ — триацилглицеролы; ЖК — жирные кислоты. Сплошными стрелками обозначены прямые регуляторные взаимодействия, пунктирными — непрямые реакции или непрямые регуляторные взаимодействия

в транспорте ЖК из внеклеточного пространства, а также адипоцит-специфичный, СЖК-связывающий транспортный белок aP2 (FABP4) [51], который транспортирует жирные кислоты в ядро клетки. [33]. Активированный PPARγ оказывает противоположные эффекты на экспрессию транскрипционного фактора SREBP-1c и его процессинг. С одной стороны, одним из генов-мишеней PPARγ в адипоцитах является транскрипционный фактор LXRα [56], который, в свою очередь, активирует транскрипцию SREBP-1c [62]. С другой стороны, PPARγ, активирует также экспрессию гена INSIG-1, продукт которого негативно влияет на процессинг транскрипционных факторов семейства SREBP [67]. Третьим важным эффектом активации PPARγ является активация экспрессии гена PEPCK-C [58], ключевого фермента глицеронеогенеза в адипоцитах [11]. Этот биохимический путь обеспечивает наработку глицерол-3-фосфата, который используется в качестве исходного вещества для биосинтеза триглицерилов. Таким образом, активация PPARγ жирными кислотами приводит к их ускоренной утилизации в процессе биосинтеза триацилглицеролов.

В настоящее время для лечения диабета и инсулинорезистентности широко применяются тиазолидиндионы, которые являются синтетическими лигандами PPARγ [23]. Как показал проведенный выше анализ генной сети адипоцита, активация транскрипционного фактора PPARγ обеспечивает координированную активацию экспрессии генов, вызывающую переключение метаболических процессов адипоцита. Экспрессия генов, контролирующих эндогенный синтез жирных кислот, подавляется, и одновременно активируется система генов, контролирующих поступление СЖК в клетки и депонирование жирных кислот в форме триацилглицеролов. Это может быть механизмом увеличения веса, наблюдаемого при терапии тиазолидиндионами [52].

7. Полиморфизмы некоторых генов из генных сетей липидного метаболизма, ассоциированные с патологическими состояниями у человека

Накопление информации как о составе генов, задающих определенный фенотипический признак, так и о структурной организации соответствующей генной сети является чрезвычайно важной задачей, решение которой ведет к пониманию молекулярных механизмов физиологических процессов. Следует отметить, что большинство генов содержат мутации (полиморфные сайты). Полиморфные сайты нередко влияют на функциональную активность генов и/или функцию белка, что может способствовать развитию патологических процессов, а также обуславливать индивидуальные фенотипические различия.

В работах, посвященных изучению ассоциаций полиморфизмов генов с различными патологическими состояниями у человека, часто акцентируется внимание на том, что большинство аллелей генов, влияющих на сложные фенотипы, должны изменять структуру белка [16, 30, 57]. Но в последнее время появляется все больше работ, где описываются полиморфизмы в некодирующих областях генов, влияющие на проявление различных заболеваний у человека. Хотя такие замены не влияют на аминокислотную последовательность, они могут влиять на экспрессию белка другими путями: например, они могут оказывать влияние на процессы сплайсинга мРНК, стабильности мРНК или влиять на уровень генной транскрипции. Полиморфизм 5'- и 3'-регуляторных последовательностей или интронов генов может иметь значительный эффект на транскрипцию, поскольку может изменять сайты связывания транскрипционных факторов внутри промоторов, энхансеров, сайленсеров или других регуляторных сайтов [22].

Анализ данных, представленных в *таблице 1*, показал, что функционально значимые полиморфные сайты могут располагаться в разных участках генов. Например, известны полиморфные сайты в 5' фланкирующих районах (гены PPARγ, Ob, SR-BI) , влияющие на функциональную активность промоторных областей [4, 5, 10]. В гене Ob выявлена делеция гуанина в 133 кодоне, приводящая к сдвигу рамки считывания [20], а в гене рецептора ЛПНП идентифицирована замена в 161 позиции белка, приводящая к формированию стоп-кодона и остановке трансляции [39]. Для гена PPARγ известно по крайней мере 4 однонуклеотидных полиморфизма в кодирующей области, что, скорее всего, приводит к изменению функциональных характеристик белка, поскольку полиморфными оказываются важные позиции в сайте фосфорилирования белка и лиганд-связывающем домене. Показано, что данный транскрипционный фактор модулирует транскрипцию генов двумя механизмами: через С-концевой домен (AF-2), имеющий лигандзависимую активационную функцию, и N-концевой A/B-домен с лиганд-независимой активационной функцией (AF-1) [47, 78]. N-концевой домен PPARγ содержит консенсусный MAP-киназный сайт в области, консервативной между PPARγ1 и PPARγ2 изоформами. MAP-киназный сайт фосфорилируется *in vivo* и *in vitro* киназами ERK и JNK [41, 14, 78]. Фосфорилирование значительно ингибирует лиганд-зависимую и лиганд-независимую трансактивирующую функцию PPARγ. Мутации в MAP-киназном сайте PPARγ увеличивают его адипогенную активность [78]. Модулирование активности PPARγ через его фосфорилирование является, в частности, одним из механизмов, с помощью которого такие регуляторные молекулы, как простагландин F2a (PGF2a) и паратириоидный гормон-родственный пептид (PTHrP), негативно регулируют дифференцировку адипоцитов [60, 61].

В настоящее время существует представление, что развитие мультифакториальных заболеваний обусловлено суммарным вкладом измененных активностей множества генов. Согласно этой модели фенотипическое проявление генетического компонента в развитии заболевания может возникнуть при наличии «провоцирующего» фактора внешней среды. Концептуально основная задача исследований сводится к нахождению генов, структурные изменения в которых могут быть причинно связаны с развитием заболеваний сложной природы. В настоящее время уже известны некоторые гены, обусловливающие предрасположенность к таким заболеваниям. Полиморфизм в этих генах не обязательно приводит к заболеванию, но риск его развития повышен, если мутация локализуется в функционально значимой области гена. Например, для генов контролирующих пищевое поведение *(Рис. 6)*, известны десятки мутаций, которые на уровне фенотипа ассоциированы с одним и тем же признаком – избыточной масой тела. В *таблице 1* приведены в качестве примера полиморфные сайты в одном из генов этой системы, а именно в гене Ob, кодирующем гормон лептин, о которых известно, что наличие одного из аллельных вариантов полиморфных сайтов связано с предрасположенностью к ожирению.

Дополнительно генетические варианты генов SR-BI и LDLR *(Таблица 1)*, экспрессирующихся в адипоцитах и вовлеченных в поглощение холестерина в составе липопротеиновых частиц различной плотности, могут объяснить значительную часть индивидуальных различий концентрации

Таблица 1

Полиморфизмы некоторых генов из генных сетей липидного метаболизма, ассоциированные с патологическими состояниями у человека

Ген / функция белка	Позиция в гене или белке	Положение полиморфного участка в белке или гене и сопряженное с ним нарушение функции	Эффект на уровне организма	Ссылка
PPARγ / транскрипционный фактор	Pro115Gln	Сайт фосфорилирования митоген-активированными протеин киназами Нарушение фосфорилирования серина в 114 позиции.	Ускорение дифференцировки адипоцитов	[54]
PPARγ / транскрипционный фактор	Pro467Leu, Val290Met	Лиганд связывающий домен	Нечувствительность к инсулину, диабет2 типа, гипертония	[25]
PPARγ / транскрипционный фактор	T->A 1164 Phe388Leu	Спираль 8 в лиганд-связывающем домене	Наследственная липодистрофия	[59]
PPARγ / транскрипционный фактор	C->T 1273 в 6 экзоне Arg425Cys	Петля между спиралями 9 и 10 в лиганд связывающем домене	Наследственная липодистрофия	[6]
PPARγ / транскрипционный фактор	gamma3 промотор C->G –681 от начала экзона A2	В сайте связывания STAT5B, нарушается взаимодействие транскрипционный фактор/ДНК	Повышение уровня LDL	[4]
Ob / гормон лептин	две мутации одновременно: G328A Ala110Met и C->T в 33 позиции после терминирующего кодона TGA		Ожирение, низкий уровень лептина	[40]
Ob / гормон лептин	промотор, -2548 G/A	Изменение уровня транскрипции	У гомозигот AA уровень мРНК лептина на 60 % выше, чем у GA гетерозигот и GG гомозигот	[5]
Ob / гормон лептин	Делеция G в 133 кодоне	Сдвиг рамки считывания	Ожирение в раннем возрасте, низкий уровень лептина	[20]
LDLR / рецептор к ЛПНП	Glu161Stop codon	Остановка трансляции	Мутация обнаружена у больного наследственной гиперхолистеринемией	[39]
SR-BI / рецептор к холестериновым эфирам, фосфолипидам и липопротеиновым частицам	Делеция в позициях -140 / -150	Делеция разрушает сайт связывания с ТФ Sp1, что приводит к резкому снижению активности промотора SR-BI	Ассоциация с увеличением плазматического уровня ЛПВП	[10]

данных частиц в плазме крови. Адипоциты обладают уникальной способностью накапливать холестерин при ограниченном синтезе своего собственного [49]. Большая часть адипоцитных стеролов происходят из циркулирующих липопротеинов. Подобно всем периферическим клеткам адипоциты экспрессируют рецептор к ЛПНП (LDLR) для поглощения богатых холестерином ЛПНП через механизм эндоцитоза [8]. Значительное количество холестерина поступает в адипоцит и через специфическое поглощение холестериновых эфиров (ХЭ) от липопротеиновых частиц высокой плотности (ЛПВП) через скавендер-рецептор (SR-B1) [37], ХЭ-транспортный белок (CETP) [17], а также ЛПНП-рецептор родственный белок (LRP) [79].

8. Заключение

На основе разработанной нами ранее технологии GeneNet, позволяющей реконструировать и проводить анализ генных сетей, контролирующих различные процессы на молекулярном, клеточном и организменном уровнях, была реконструирована серия сетей, в число которых входят генные сети, контролирующие липидный метаболизм.

Анализ генной сети регуляции внутриклеточного уровня холестерина в гепатоците и генной сети липидного метаболизма в адипоците продемонстрировал чрезвычайную сложность механизмов, обеспечивающих нормальную жизнедеятельность клеток и организма в целом. Вместе с тем логический анализ позволил выявить ключевые регуляторы экспрессии генов, составляющих данные сети, и определить механизмы, контролирующие их активность. Так, активность генов биосинтеза холестерина регулируется транскрипционными факторами семейства SREBP, активность которых, в свою очередь, контролируется по принципу обратной связи: чем выше концентрация холестерина, тем ниже активность SREBP.

На основе анализа данных из генной сети адипоцита показано, что регуляция внутриклеточного уровня жирных кислот (ЖК) осуществляется, по крайней мере, тремя механизмами: через контроль липолиза, контроль синтеза ЖК *de novo* и поступления их в клетку из плазмы. Ключевым транскрипционным фактором, регулирующим переключение метаболических процессов с внутриклеточного синтеза ЖК на поступление ЖК в адипоцит и депонирование ЖК в форме три-

ацилглицеролов, является PPARγ. Нарушение активности данного фактора может приводить к липодистрофии. С другой стороны, следствием повышенной активности этого фактора является увеличение массы жировой ткани, поскольку PPARγ контролирует не только метаболизм липидов, но и является ключевым фактором адипогенеза, запускающим адипогенную программу в клетках-предшественниках. Дополнительно следует отметить, что жировая ткань не является пассивной тканью, накапливающей липиды: это активно секретирующая ткань. Изменение уровня секреции жирных кислот и регуляторных молекул вследствие увеличения массы и/или патологических изменений жировой ткани приведет к нарушению липидного обмена и метаболических процессов в организме

Важно отметить, что большинство генов характеризуются наличием значительного числа полиморфных сайтов, которые могут обуславливать разные функциональные проявления экспрессии гена, в том числе и патологические. Ключевым моментом, необходимым для эффективного поиска участков генома, играющих определяющую роль в реализации существенных фенотипических различий в популяциях человека, по всей вероятности, является синтез имеющихся представлений о функциях различных генов и их частей, об их структурных особенностях; данных об известных структурных вариантах и их биологических эффектах, указывающих на то, что конкретный ген может быть вовлечен в реализацию определенного фенотипического признака. Особенное значение этот подход имеет в изучении генетических механизмов, определяющих формирование фенотипов, к числу которых относится предрасположенность к наиболее распространенным заболеваниям.

Компьютерная технология GeneNet позволяет обобщить информацию о функциях генов как с нормальным, так и с измененным профилем экспрессии, и разработать вероятные сценарии развития патологических процессов. Анализ сценариев и их экспериментальная проверка создают базу для поиска новых фармакологических агентов для коррекции заболеваний.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, Министерством промышленности, науки и технологий (проект 43.073.1.1.1501), СО РАН (проект № 10.4, № 119), госконтрактом №02.434.11.3004 от 01.04.2005 (Договор № 23/2005) с Федеральным агентством по науке и инновациям «Идентификация перспективных мишеней действия новых лекарственных препаратов на основе реконструкции генных сетей» федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002-2006 годы, договором №34/2005 от 01.07.05 г. с ИХБиФМ СО РАН «Подходы к пониманию механизмов активирования и сайленсинга генов в эволюции животных» в рамках госконтракта № 10104-71/П-10/147-269/240605-070 от 24.06.05 по программе фундаментальных исследований РАН «Молекулярная и клеточная биология», госконтрактом № 02.467.11.1005 от 30.09.2005 г. с Федеральным агентством по науке и инновациям «Разработка комплекса программных компонентов для компьютерного моделирования и дизайна в области постгеномной системной биологии (системная биология in silico)» федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» на 2002-2006 годы, междисциплинарным интеграционным проектом фундаментальных исследований СО РАН № 115 «Разработка интеллектуальных информационных технологий генерации и анализа знаний для поддержки фундаментальных научных исследований в области естественных наук». Авторы выражают благодарность А.Л. Проскура за участие в реконструкции генных сетей, И.В. Лоховой за библиографическую поддержку работы, а также Е.А. Ананько за курирование базы данных GeneNet.

GENE NETWORKS OF LIPID METABOLISM

N.A. Kolchanov, M.I. Voevoda, T.N. Kuznetsova, V.A. Mordvinov , E.V. Ignatieva

The aim of the present study is to analyze organization and mechanisms of regulation and functioning of the gene networks controlling lipid metabolism in eukaryotic cell. The gene networks of lipid metabolism were designed by using computer-aided technology GeneNet. By analyzing the gene networks of intracellular cholesterol level regulation in hepatocytes and lipid metabolism regulation in adipocytes, transcription factors belonging to the SREBP family and PPARγ factor were shown to be the key regulators of genes of lipid metabolism. Activity of the factors of SREBP family is controlled by the negative feedback: the higher is cholesterol concentra-

tion, the lesser is SREBP activity. The PPARγ factor is activated by ligands, including the fatty acids. Among the genes described in the gene network of an adipocyte and regulated by PPARγ factors are genes encoding the following proteins: 1) proteins transporting fatty acids; 2) LXRα and INSIG-1 proteins regulating expression and maturation of the SREBP-1c transcription factor; and 3) PEPCK-C enzyme. The data accumulated provide the bases for directed experimental research aimed at discovery of targets suitable for lipid metabolism regulation in eukaryotic cells. The information about polymorphism of genes involved in the lipid metabolism gene networks is summarized. These gene polymorphisms stipulate for different functional gene expression manifestation including pathology. Functionally important polymorphisms may be localized both in coding and in non-coding gene regions. A conclusion has been made that the synthesis of information about the structure and function of gene networks together with the data about known gene polymorphisms and their biological impacts is the necessary stage in studying genetic mechanisms determining phenotypes including predisposition to the most widely distributed diseases.

Литература

1. Генные сети / Н.А. Колчанов, Е.А. Ананько, Ф.А. Колпаков и др. // Молекулярная биология. — 2000. — Т. 34. — № 4. — С. 533-544.

2. Интеграция генных сетей, контролирующих физиологические функции организма / Н.А. Колчанов, О.А. Подколодная, Е.В. Игнатьева и др. // Вестник ВОГиС. — 2005. — Т. 9. — № 2. — С. 179-198.

3. Интегрированная компьютерная система по регуляции экспрессии генов эукариот / Н.А. Колчанов, О.А. Подколодная, Е.А. Ананько и др. // Молекулярная биология. — 2004. — Т. 38. — № 1. — С. 69-81.

4. A functional polymorphism in a STAT5B site of the human PPAR gamma 3 gene promoter affects height and lipid metabolism in a French population / A. Meirhaeghe, L. Fajas, F. Gouilleux, et al. // Arterioscler. Thromb. Vas. Biol. — 2003. — Vol. 23. — P. 289-294.

5. A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin / J. Hoffstedt, P. Eriksson, S. Mottagui-Tabar, et al. // Horm. Metab. Res. — 2002. — Vol. 34. — P. 355-359.

6. *Agarwal A.K.* A novel heterozygous mutation in peroxisome proliferator-activated receptor-gamma gene in a patient with familial partial lipodystrophy / A.K. Agarwal, A. Garg // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 2002. — Vol. 87. — P. 408-411.

7. *Anderwald C.* Adipotoxicity and the insulin resistance syndrome / C. Anderwald, M. Roden // Pediatr. Endocrinol. Rev. — 2004. — Vol. 1. — № 3. — P. 310-319.

8. *Angel A.* Low density lipoprotein binding, internalization, and degradation in human adipose cells / A. Angel, M.A. D'Costa, R. Yuen // J. Biochem. — 1979. — Vol. 57. — № 6. — P. 578-587.

9. Angiotensin II via AT1 receptor accelerates arterial thrombosis in renovascular hypertensive rats / M. Kaminska, A. Mogielnicki, A. Stankiewicz, K. Kramkowski // J. Physiol. Pharmacol. — 2005. — Vol. 56. — № 4. — P. 571-585.

10. Association between a novel 11-base pair deletion mutation in the promoter region of the scavenger receptor class B type I gene and plasma HDL cholesterol levels in Taiwanese Chinese / L.A. Hsu, Y.L. Ko, S. Wu, et al. // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2003. — Vol. 23. — № 10. — P. 1869-1874.

11. *Ballard F.J.* Phosphoenolpyruvate carboxykinase and the synthesis of glyceride-glycerol from pyruvate in adipose tissue / F.J. Ballard, R.W. Hanson, G.A. Leveille // J. Biol. Chem. — 1967. — Vol. 242. — № 11. — P. 2746-2750.

12. *Barsh G.S.* Genetics of body-weight regulation / G.S. Barsh, I.S. Farooqi, S. O'Rahilly, et al. // Nature. — 2000. — Vol. 404. — P. 644-651.

13. *Bodary P.F.* Recent advances in understanding endogenous fibrinolysis: implications for molecular-based treatment of vascular disorders / P.F. Bodary, K.J. Wickenheiser, D.T. Eitzman // Expert. Rev. Mol. Med. — 2002. — Vol. 26. — P. 1-10.

14. *Camp H.* c-Jun N-terminal kinase phosphorylates peroxisome proliferator-activated receptor-gamma1 and negatively regulates its transcriptional activity / H. Camp, S. Tafuri, T. Leff // Endocrinology. — 1999. — Vol. 140. — № 1. — P. 392-397.

15. Central nervous system control of food intake / M.W. Schwartz, S.C. Woods, D. Jr. Porte, et al. // Nature. — 2000. — Vol. 404. — № 6778. — P. 661-671.

16. Characterization of SNPs in coding regions of humane genes / M. Cargill, D. Altshuler, J. Ireland, et al. // Nature Genet. — 1999. — Vol. 22. — № 3. — P. 231-238.

17. Cholesteryl ester transfer protein mediates selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters by human adipose tissue / F. Benoist, P. Lau, M. McDonnell, et al. // J. Biol. Chem. — 1997. — Vol. 272. — № 38. — P. 23572-23577.

18. Chronic exposure to free fatty acids or high glucose induces apoptosis in rat pancreatic islets: possible role of oxidative stress / S. Piro, M. Anello, C. Di Pietro, et al. // Metabolism. — 2002. — Vol. 51. — № 10. — P. 1340-1347.

19. Chronic hyperglycemia is associated with impaired glucose influence on insulin secretion / J.L. Leahy, H.E. Cooper, D.A. Deal, G.C. Weir // J. Clin. Invest. — 1986. — Vol. 77. — P. 908–915.

20. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans / C.T. Montague, I.S. Farooqi, J.P. Whitehead, et al. // Nature. — 1997. — Vol. 387. — P. 903-908.

21. Crucial step in cholesterol homeostasis: sterols promote binding of SCAP to INSIG-1, a membrane protein that facilitates retention of SREBPs in ER / T. Yang, P.J. Espenshade, M.E. Wright, et al. // Cell. — 2002. — Vol. 110. — № 4. — P. 489-500.

22. Cytokine gene polymorphism in human disease: online databases / J. Bidwell, L. Keen, G. Gallagher, et al. //

Genes and Immunity. — 1999. — Vol. 1. — P. 3-19.

23. *Desvergne B.* Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism / B. Desvergne, W. Wahli // Endocr. Rev. — 1999. — Vol. 20. — № 5. — P. 649-688.

24. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes / G. Lewis, A. Carpentier, K. Adeli, A. Giacca // Endocrine Rewies. — 2002. — Vol. 23. — № 2. — P. 201-229.

25. Dominant negative mutations in human PPAR-gamma associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension / I. Barroso, M. Gurnell, V.E. Crowley, et al. // Nature. -1999. — Vol. 402. — P. 880-883.

26. *Elks M.N.* Chronic perifusion of rat islets with palmitate suppresses glucose-stimulated insulin release / M.N. Elks // Endocrinology. — 1993. — Vol. 133. — P. 208 -214.

27. Fatty acid-induced beta cell apoptosis: a link between obesity and diabetes / M. Shimabukuro, Y.T. Zhou, M. Levi, R.H. Unger // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1998. — Vol. 95. — № 5. — P. 2498-2502.

28. Fatty acids and eicosanoids regulate gene expression through direct interactions with peroxisome proliferator-activated receptors alpha and gamma / S. Kliewer, S. Sundseth, S. Jones, et al. / Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1997. — Vol. 94. — № 9. — P. 4318-4323.

29. *Frohnert B.I.* Identification of a functional peroxisome proliferator-responsive element in the murine fatty acid transport protein gene / B.I. Frohnert, T.Y. Hui, D.A. Bernlohr // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274. — № 7. — P. 3970-3977.

30. *Gard K.* Identifocation of candidate coding region SNPs in 165 human genes using assembled expressed sequence tags / K. Gard, P. Green, D. Nickerson // Genome Res. — 1999. — Vol. 9. — P. 1087-1092.

31. GeneNet in 2005 / E.A. Ananko, N.L. Podkolodny, I.L. Stepanenko, et al. // Nucleic Acids Res. — 2005. — Vol. 33. — P. D425-D427.

32. GeneNet: a database on structure and functional organisation of gene networks / E.A. Ananko, N.L. Podkolodny, I.L. Stepanenko, et al. // Nucleic Acids Res. — 2002. — Vol. 30. — № 1. — P. 398-401.

33. Genetic variation in fatty acid-binding protein-4 and peroxisome proliferator-activated receptor gamma interactively influence insulin sensitivity and body composition in males / C.M. Damcott, S.P. Moffett, E. Feingold, et al. // Metabolism. — 2004. — Vol. 53. — № 3. — P. 303-309.

34. *Gimpl G.* A closer look at the cholesterol sensor / G. Gimpl, K. Burger, F. Fahrenholz // Trends Biochem. Sci. — 2002. — Vol. 27. — P. 596-599.

35. Glycation and glycoxidation of low-density lipoproteins by glucose and low-molecular mass aldehydes. Formation of modified and oxidized particles / H.M. Knott, B.E. Brown, M.J. Davies, R.T. Dean // Eur. J. Biochem. — 2003. — Vol. 270. — № 17. — P. 3572-3582.

36. *Hansson G.* Inflammation and atherosclerosis / G. Hansson, A.-K. Robertson, C. Soderberg-Naucler // Annu. Rev. Pathol. Dis. — 2006. — Vol. 1. — P. 297-329.

37. HDL-mediated cholesterol uptake and targeting to lipid droplets in adipocytes / G. Dagher, N. Donne, C. Klein, et al. // J. Lipid Res. — 2003. — Vol. 44. — № 10. — P. 1811-1820.

38. Heterozygous osteopetrotic (op) mutation reduses atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice / T. Rajavashisth, J. Qiao, S. Tripathi, J. Tripathi // J. Clin. Invest. — 1998. — Vol. 101. — P. 2702-2710.

39. Identification of four novel mutations of the low-density lipoprotein receptor gene in Korean patients with familial hypercholesterolemia / J.A. Shin, S.H. Kim, U.K. Kim, et al. // Clin. Genet. — 2000. — Vol. 57. — № 3. — P. 225-229.

40. Identification of new sequence variants in the leptin gene / M.K. Karvonen, U. Pesonen, P. Heinonen, et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. — 1998. — Vol. 83. — P. 3239-3242.

41. Inhibition of adipogenesis through MAP kinase-mediated phosphorylation of PPARgamma / E. Hu, J. Kim, P. Sarraf, B.M. Spiegelman // Science. — 1996. — Vol. 274. — № 5295. — P. 2100-2103.

42. Insig-1 «brakes» lipogenesis in adipocytes and inhibits differentiation of preadipocytes / J. Li, K. Takaishi, W. Cook, S.K. McCorkle // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2003. — Vol. 100. — № 16. — P. 9476-9481.

43. Insulin continues to induce plasminogen activator inhibitor 1 gene expression in insulin-resistant mice and adipocytes / F. Samad, M. Pandey, P.A. Bell, D.J. Loskutoff // Mol. Med. — 2000. — Vol. 6. — № 8. — P. 680-692.

44. Insulin increases angiotensinogen expression in human abdominal subcutaneous adipocytes / A. Harte, P. McTernan, C. McTernan, et al. // Diabetes Obes. Metab. — 2003. — Vol. 5. — № 6. — P. 462-467.

45. Insulin regulation of the two glucose transporters in 3T3-L1 adipocytes / D.M. Calderhead, K. Kitagawa, L.I. Tanner, et al. // J. Biol. Chem. — 1990. — Vol. 265. — № 23. — P. 13800-13808.

46. Insulin/IGF-1 and TNF-alpha stimulate phosphorylation of IRS-1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways / L. Rui, V. Aguirre, J.K. Kim, G.I. Shulman // J. Clin. Invest. — 2001. — Vol. 107. — № 2. — P. 181-189.

47. Interdomain communication regulating ligand binding by PPAR-gamma / D. Shao, S.M. Rangwala, S.T. Bailey, et al. // Nature. — 1998. — Vol. 396. — P. 377-380.

48. *Kopelman P.* Obesity as a medical problem / P. Kopelman // Nature. — 2000. — Vol. 404. — P. 635-643

49. *Kovanen P.T.* Regulation of cholesterol synthesis and storage in fat cells / P.T. Kovanen, E.A. Nikkila, T.A. Miettinen // J. Lipid Res. — 1975. — Vol. 16. — № 3. — P. 211-223.

50. *Morrison R.F.* Hormonal signaling and transcriptional control of adipocyte differentiation / R.F. Morrison, S.R. Farmer // J. Nutr. — 2000. — Vol. 130. — № 12. — P. 3116S-3121S.

51. mPPAR gamma 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer / P. Tontonoz, E. Hu, R.A. Graves, et al. // Genes Dev. — 1994. — Vol. 8. — № 10. — P. 1224-1234.

52. *Ness-Abramof R.* Drug-induced weight gain / R. Ness-Abramof, C.M. Apovian // Drugs Today. — 2005. — Vol. 41. — № 8. — P. 547-555.

53. Nutritional and insulin regulation of fatty acid synthetase and leptin gene expression through ADD1/SREBP1 / J.B. Kim, P. Sarraf, M. Wright, et al. // J. Clin.

Invest. — 1998. — Vol. 101. — № 1. — P. 1-9.

54. Obesity associated with a mutation in a genetic regulator of adipocyte differentiation / M. Ristow, D. Muller-Wieland, A. Pfeiffer, et al. // N. Engl J. Med. — 1998. — Vol. 339. — P. 953-959.

55. *Olson A.L.* Structure, function, and regulation of the mammalian facilitative glucose transporter gene family / A.L. Olson, J.E. Pessin // Annu. Rev. Nutr. — 1996. — Vol. 16. — P. 235-256.

56. On the role of liver X receptors in lipid accumulation in adipocytes / L. Juvet, S. Andresen, G. Schuster, et al. // Mol. Endocrinol. — 2003. — Vol. 17. — № 2. — P. 172-182.

57. Patterns of SNPs in candidate genes for blood-pressure homeostasis / M.K. Halushka, J.B. Fan, K. Bentley, et al. // Nature Genet. — 1999. — V. 22. — № 3. — P. 239-247.

58. PPAR gamma 2 regulates adipose expression of the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene / P. Tontonoz, E. Hu, J. Devine, et al. // Mol. Cell. Biol. — 1995. — Vol. 15. — № 1. — P. 351-357.

59. PPARG F388L, a transactivation-deficient mutant, in familial partial lipodystrophy / R.A. Hegele, H. Cao, C. Frankowski, et al. // Diabetes. — 2002. — Vol. 51. — P. 3586-3590.

60. Prostaglandins promote and block adipogenesis through opposing effects on peroxisome proliferator-activated receptor gamma / M. Reginato, S. Krakow, S. Bailey, M.A. Lazar // J. Biol. Chem. — 1998. — Vol. 273. — № 4. — P. 1855-1858.

61. PTHrP inhibits adipocyte differentiation by downregulating PPAR activity via a MAPK-dependent pathway / G.K. Chan, R.A. Deckelbaum, I. Bolivar, et al. // Endocrinology. — 2003. — Vol. 142. — P. 4900–4909.

62. Regulation of mouse sterol regulatory element-binding protein-1c gene (SREBP-1c) by oxysterol receptors, LXRα and LXRα / J. Repa, G. Liang, J. Ou, et al. // Genes & Development. — 2000. — Vol. 14. — P. 2818-2830.

63. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression by adipocyte differentiation and determination factor 1/sterol regulatory element binding protein 1: implications for adipocyte differentiation and metabolism / L. Fajas, K. Schoonjans, L. Gelman, et al. // Mol. Cell. Biol. — 1999. — Vol. 19. — № 8. — P. 5495-5503.

64. Regulatory role of glycogen synthase kinase 3 for transcriptional activity of ADD1/SREBP1c / K. Kim, M. Song, E. Yoo, et al. // J. Biol. Chem. — 2004. — Vol. 279. — № 50. — P. 51999-52006.

65. Relationship to insulin resistance of the adult treatment panel III diagnostic criteria for identification of the metabolic syndrome / K.L. Cheal, F. Abbasi, C. Lamendola, et al. // Diabetes. — 2004. — Vol. 53. P. 1195–1200.

66. Role of ATP production and uncoupling protein-2 in the insulin secretory defect induced by chronic exposure to high glucose or free fatty acids and effects of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma inhibition / G. Patane, M. Anello, S. Piro, et al. // Diabetes. — 2002. — Vol. 51. — № 9. — P. 2749-2756.

67. Rosiglitazone induction of Insig-1 in white adipose tissue reveals a novel interplay of peroxisome proliferator-activated receptor gamma and sterol regulatory element-binding protein in the regulation of adipogenesis / H.R. Kast-Woelbern, S.L. Dana, R.M. Cesario, et al. // J. Biol. Chem. — 2004. — Vol. 279. — № 23. — P. 23908-23915.

68. *Rotter V.* Interleukin-6 (IL-6) induces insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes and is, like IL-8 and tumor necrosis factor-alpha, overexpressed in human fat cells from insulin-resistant subjects / V. Rotter, I. Nagaev, U. Smith // J. Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278. — № 46. — P. 45777-45784.

69. *Sartipy P.* Expression profiling identifies genes that continue to respond to insulin in adipocytes made insulin-resistant by treatment with tumor necrosis factor-alpha / P. Sartipy, D.J. Loskutoff // J. Biol. Chem. — 2003. — Vol. 278. — № 52. — P. 52298-52306.

70. *Sartipy P.* Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance / P. Sartipy, D.J. Loskutoff // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2003. — Vol. 100. — № 12. — P. 7265-7270.

71. *Schling P.* Human adipose tissue cells keep tight control on the angiotensin II levels in their vicinity / P. Schling, T. Schafer // J. Biol. Chem. — 2002. — Vol. 277. — № 50. — P. 48066-48075.

72. *Shimano H.* Sterol regulatory element-binding protein family as global regulators of lipid synthetic genes in energy metabolism / H. Shimano // Vitam. Horm. — 2002. — Vol. 65. — P. 167-194.

73. *Sibley S.* Hypertension, obesity, and the renin-angiotensin system: a tale of tight associations / S. Sibley // Minn. Med. — 2003. — Vol. 86. — № 1. — P. 46-48.

74. SREBP-1, a membrane-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis / X. Wang, R. Sato, M.S. Brown, et al. // Cell. — 1994. — Vol. 77. — № 1. — P. 53-62.

75. *Stocker R.* Role of oxidative modifications in atherosclerosis / R. Stocker, J.F. Keaney // Physiol. Rev. — 2004. — Vol. 84. — № 4. — P. 1381-1478.

76. Structural and functional characterization of the mouse fatty acid translocase promoter: activation during adipose differentiation / L. Teboul, M. Febbraio, D. Gaillard, et al. // Biochem. J. — 2001. — Vol. 360. — № 2. — P. 305-312.

77. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation / G. Fruhbeck, J. Gomez-Ambrosi, F. Muruzabal, M.A. Burrell // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. — 2001. — Vol. 280. — № 6. — P. E827-E847.

78. Transcriptional activation by peroxisome proliferator-activated receptor gamma is inhibited by phosphorylation at a consensus mitogen-activated protein kinase site / M. Adams, M. Reginato, D. Shao, et al. / J. Biol. Chem. — 1997. — Vol. 272. — № 8. — P. 5128-5132.

79. *Vassiliou G.* A novel efflux-recapture process underlies the mechanism of high-density lipoprotein cholesteryl ester-selective uptake mediated by the low-density lipoprotein receptor-related protein / G. Vassiliou, R. McPherson // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2004. — Vol. 24. — № 9. — P. 1669-1675.

80. *Yabe D.* Insig-2, a second endoplasmic reticulum protein that binds SCAP and blocks export of sterol regulatory element-binding proteins / D. Yabe, M.S. Brown, J.L. Goldstein // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — Vol. 99. — № 20. — P. 12753-12758.