

DOI: 10.7868/S0869813918070031

**АМФ-АКТИВИРУЕМАЯ ПРОТЕИНКИНАЗА —  
ПУСКОВОЕ ЗВЕНО ГИПОГРАВИТАЦИОННОЙ ПЕРЕСТРОЙКИ  
ПОСТУРАЛЬНОЙ МЫШЦЫ**

© *Б. С. Шенкман, Н. А. Вильчинская*

Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия  
E-mail: bshenkman@mail.ru

При действии реальной или моделируемой невесомости, а также иммобилизации в первую очередь страдают постуральные мышцы. При этом наблюдается уменьшение их жесткости, развитие мышечной атрофии и сдвиг миозинового фенотипа в быструю сторону. В основе мышечной атрофии, наблюдаемой при действии микрогравитации, лежит увеличение интенсивности протеолитических процессов и снижение уровня синтеза белка. Сдвиг миозинового фенотипа происходит в результате снижения экспрессии гена медленной изоформы тяжелых цепей миозина и увеличения экспрессии генов быстрых изоформ. В настоящее время недостаточно изучены пусковые механизмы развития атрофии постуральной мышцы и трансформации ее миозинового фенотипа, действующие в течение нескольких часов/дней после устранения опоры. Известно, что после устранения опоры наблюдается мгновенное прекращение электрической активности камбаловидной мышцы (по показателям электромиографии), которое сохраняется в течение 3 суток. Имеются некоторые данные, говорящие о сдвиге энергетического метаболизма при гравитационной разгрузке. Можно предположить, что этот сдвиг запускает цепь сигнальных реакций, приводящих к развитию атрофических и иных процессов в скелетной мышце. При этом должен существовать сигнальный сенсор состояния энергетического метаболизма. Такой сенсор давно известен. Это АМФ-активируемая протеинкиназа (АМРК). В настоящем обзоре рассматриваются изменения активности/уровня фосфорилирования и сигнальная роль АМРК в постуральной мышце млекопитающих (преимущественно в камбаловидной мышце) при гравитационной разгрузке, т. е. при устранении опорной и осевой нагрузок с мышц тыльных экстензоров голени. На основе собственных данных и данных литературы авторы подчеркивают, что АМРК выполняет ключевую роль в процессах глубокой перестройки сигнальных путей, определяющей изменения метаболизма, структуры и функции волокон постуральной мышцы в условиях гравитационной разгрузки.

*Ключевые слова:* АМФ-активируемая протеинкиназа, гистондеацетилазы, рибосомальная протеинкиназа, камбаловидная мышца, гравитационная разгрузка.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 8. С. 922—944. 2018

*B. S. Shenkman, N. A. Vilchinskaya.* AMP-ACTIVATED PROTEIN KINASE AS A TRIGGERING POINT OF THE HYPOGRAVITY-INDUCED POSTURAL MUSCLE REMODELING. Institute of Biomedical Problems of the RAS, Moscow, Russia; e-mail: bshenkman@mail.ru.

It is postural muscle to suffer first from the real or simulated weightlessness or cast immobilization. It is observed to reduce stiffness, to develop fiber atrophy and shift from slow to fast myosin expression. The atrophy development observed under microgravity conditions is based upon enhanced protein degradation and reduced protein synthesis. The myosin phenotypic shift happens as a result of the decreased slow-type myosin isoform expression and increased fast-type isoforms expression. At present the triggering mechanisms of atrophy development and myosin phenotype transformation in postural muscle are poorly studied. The initial events taking place at the first hours/days after support withdrawal are completely unexplored. It is known that immediately after support withdrawal the elimination of the soleus muscle electrical activities is observed (according to EMG data), which preserves until the 3rd day of unloading. There is some evidence for the shift of the muscle energy metabolism during gravitational unloading. It is easy to suppose that this shift triggers on the cascade of the signaling events which induce the atrophy development and the other fiber remodeling. This speculation suggests the existence of the molecular sensor of the state of the energy metabolism. Such sensor is well-known. It is the AMP-activated protein kinase (AMPK). The present review was aimed to consider the changes of the activity/phosphorylation level and signaling role(s) of AMPK in the mammalian postural muscle (e. g. soleus muscle) during gravitational unloading, i. e. after withdrawal of the support and axial loading from ankle dorsal extensors. On the basis of the own and literature data the authors imply that AMPK plays the key roles in the deep remodeling of the signaling pathways which determines metabolic, structural and functional alterations of the postural muscle under conditions of gravitational unloading.

*Key words:* AMPK, HDAC4/5, p70S6K, m. soleus, gravitational unloading.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 8. P. 922—944. 2018

Скелетная мышца — один из наиболее пластичных органов, который способен менять структуру и метаболизм в зависимости от предлагаемого режима сократительной активности. В условиях гипокинезии, при иммобилизации, при различных параличах, в невесомости развивается комплекс атрофических изменений, приводящий к значительному уменьшению мышечной массы и снижению сократительных возможностей [5, 6]. При действии реальной или моделируемой невесомости, а также иммобилизации в первую очередь страдают постуральные мышцы [6—8, 16]. При этом наблюдается уменьшение их жесткости, развитие мышечной атрофии и сдвиг миозинового фенотипа в быструю сторону [6—8, 10, 12, 16, 60]. В основе мышечной атрофии, наблюдаемой при действии микрогравитации, лежит увеличение интенсивности протеолитических процессов и снижение уровня синтеза белка [18, 21, 59, 80]. Сдвиг миозинового фенотипа происходит в результате снижения экспрессии гена медленной изоформы тяжелых цепей миозина и увеличения экспрессии генов быстрых изоформ [39, 72, 105].

Несмотря на большое количество исследований, направленных на изучение мышечной атрофии, до сих пор остается нерешенным целый ряд вопросов. Особенно плохо изучены пусковые механизмы развития атрофии постуральной мышцы, действующие в течение нескольких часов/дней после устранения опоры [5, 28, 62].

Известно, что после устранения опоры наблюдается мгновенное прекращение электрической активности камбаловидной мышцы (по показателям электромиографии), которое сохраняется в течение 3 суток. Затем электрическая активность постепенно восстанавливается к 6—14-м суткам воздействия [28, 62]. Представляется естественным, что снижение/прекращение электрической активности мышцы, свидетельствующее о прекращении ее сократительной активности, может привести к изменениям трех основных физиологических механизмов, непосредственно зависящих от активности мышечных волокон.

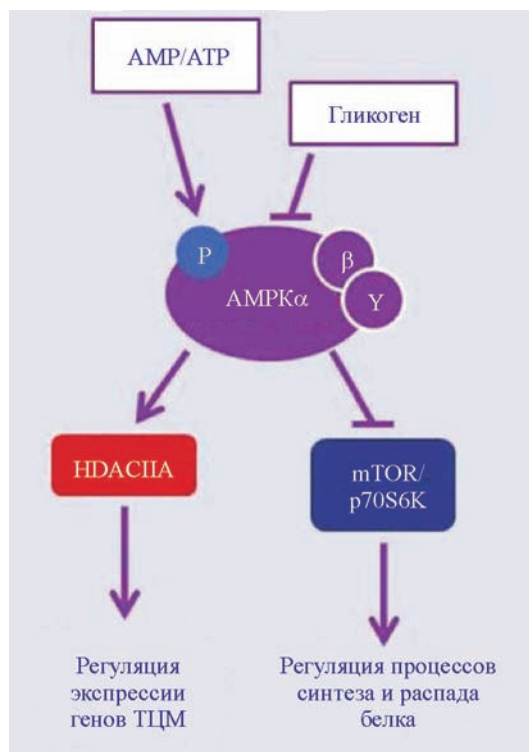


Рис. 1. Основные физиологические регуляторы активности AMPK в скелетной мышце и некоторые физиологически значимые ее сигнальные мишени.

1. Электрогенные механизмы (уменьшение концентрации  $\text{Na}^+$  внутри мышечных волокон, временное прекращение поступления ионов  $\text{Ca}^{2+}$  через потенциал-чувствительные каналы L-типа).

2. Механосенсорные молекулярные комплексы (прекращение механического воздействия структур внеклеточного матрикса на механосенсорные молекулы — интегрины и т. п. [41], прекращение активного состояния актиновых стресс-фибрилл, инактивация механочувствительных каналов, инактивация механосенсорных миофибриллярных белков).

3. Ключевые механизмы энергетического метаболизма (изменение соотношения АТФ/АДФ/АМФ и РСг/Сг, накопление гликогена).

Если об изменениях параметров двух первых комплексных механизмов мы можем говорить только предположительно (к настоящему времени экспериментальные данные о состоянии указанных параметров в начальный период разгрузки полностью отсутствуют), то в отношении энергетических показателей дело обстоит несколько иначе. Так, еще в 90-х гг. была выдвинута гипотеза о том, что гравитационная разгрузка приводит к изменению баланса макроэнергетических молекул в сторону накопления полностью фосфорилированных соединений [90]. В работе Т. Wakatsuki и соавт. было показано накопление креатинфосфата в камбаловидной мышце крыс после 10 дней антиортостатического вывешивания [115]. Еще в 1987 г. Е. I. Henriksen и М. E. Tischler сообщили о 25%-ном увеличении содержания гликогена в *m. soleus* крысы уже в первые сутки вывешивания. Достоверное превышение содержания гликогена над уровнем контроля продолжалось в течение первых трех суток вывешивания [51].

Если предположить, что описанные изменения энергетического метаболизма являются пусковыми для сигнальных процессов, приводящих к развитию атрофии, структурной (intrinsic) атонии и фенотипическим сдвигам в постуральной мышце, то должен существовать сигнальный сенсор состояния энергетического метаболизма. Такой сенсор давно известен. Это АМФ-активируемая протеинкиназа (АМРК). АМФ-зависимая протеинкиназа — это основной энергетический сенсор клетки, реагирующий на изменения соотношения макроэргических молекул (рис. 1). Поэтому прекращение электрической активности камбаловидной мышцы на начальном этапе воздействия гравитационной разгрузки должно сказываться на активности АМРК.

## АМРК — ЦЕНТРАЛЬНЫЙ СЕНСОР ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА И РЕГУЛЯТОР СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В МЫШЕЧНОМ ВОЛОКНЕ

Общеизвестно, что АМРК участвует в передаче внеклеточных сигналов путем фосфорилирования разнообразных субстратов во многих метаболических реакциях скелетной мышцы. АМРК — гетеротримерный комплекс, состоящий из трех белков: альфа-субъединица, которая обладает собственной киназной активностью, и двух регуляторных субъединиц бета и гамма. В клетках млекопитающих представлено по две изоформы альфа- и бета-субъединицы и 3 изоформы гамма-субъединицы, каждая из которых кодируется отдельными генами [1].

Молекулярная масса  $\alpha$ -субъединицы АМРК составляет 63 кДа. На N-конце  $\alpha$ -субъединицы АМРК располагается серин/треониновый киназный домен, фосфорилирование этого домена в районе Thr 172 приводит к активации АМРК [19, 84, 117]. Непосредственно за киназным доменом располагается небольшая область, названная аутоингибиторным доменом, при фосфорилировании  $\alpha$ -субъединицы в этом регионе происходит ингибирование активности АМРК [20, 40, 93].  $\alpha 1$ -Субъединица АМРК осуществляет контроль процессов клеточного роста, а  $\alpha 2$ -субъединица АМРК регулирует энергетический метаболизм клетки [82]. АМРК $\alpha 1$  локализована в цитоплазме, а АМРК $\alpha 2$  может быть обнаружена как в цитоплазме, так и в ядре [117].

$\beta$ -Субъединица АМРК представляет собой белок массой 30 кДа, состоит из двух доменов: N-концевого домена, содержащего участок миристоилирования (глицин-2), который может связывать  $\beta$ -субъединицу АМРК с мембраной, и внутренний гликоген-связывающий участок, гомологичный консервативным последовательностям белков, связывающих олигосахариды, и C-концевого домена, обеспечивающего связь  $\beta$ -субъединицы АМРК с двумя другими субъединицами, соединяя гетеротримерный комплекс воедино [19, 117].

Связывание гликогена с АМРК приводит к ингибированию ее активности.  $\beta 2$ -субъединица АМРК обладает большим сродством к гликогену, чем субъединица  $\beta 1$  [63]. Кроме того,  $\beta$ -субъединица содержит несколько сайтов фосфорилирования (Ser24, Ser25, Ser182), регулирующих активность АМРК, причем активность этих сайтов обнаруживается при ядерной локализации  $\beta$ -субъединицы.  $\beta 1$ - и  $\beta 2$ -субъединицы АМРК обнаружены как в цитоплазматической, так и в ядерной клеточной фракции [117].

Молекулярная масса  $\gamma$ -субъединицы АМРК составляет 38-63 кДа (в зависимости от изоформы),  $\gamma$ -субъединица АМРК несет переменный N-концевой участок, связывающий этот белок с другими субъединицами, и консервативный домен, состоящий из 4 цистионин- $\beta$ -синтазных повторов, которые форми-

руют специфические участки, связывающие АТФ или АМФ.  $\gamma$ 1-субъединица АМРК преимущественно обнаруживается в ядре [117].  $\gamma$ -Субъединица может связать 3 молекулы АМФ, причем одна из них постоянно связана с АМРК вне зависимости от энергетического статуса клетки.  $\gamma$ 2-субъединица АМРК обладает большим сродством к АМФ, чем  $\gamma$ 1-субъединица, которая обладает большей чувствительностью к АМФ, чем  $\gamma$ 3-субъединица АМРК [22].

Активность АМРК регулируется двумя способами: аллостерически и путем обратимого фосфорилирования. Аллостерическая активация АМРК осуществляется с помощью АМФ и его аналогов. Степень аллостерической активации зависит от  $\gamma$ -субъединицы, входящей в состав гетеротримера АМРК, максимальный уровень активации достигает 5-кратного увеличения активности АМРК, что является очень скромным по сравнению с фосфорилированием АМРК, при котором ее активность увеличивается 100-кратно [48].

Фосфорилирование  $\alpha$ -субъединицы АМРК в районе Thr 172 приводит к ее активации. Фосфорилирование  $\alpha$ -субъединицы АМРК осуществляют кальций-кальмодулин-зависимая протеинкиназа киназа бета (СаМКК $\beta$ ) и киназа печени В1 (LKB1). Уровень фосфорилирования  $\alpha$ -субъединицы АМРК определяется отношением соотношением активности фосфорилирующих киназ (СаМКК $\beta$  и LKB1) и протеиновых фосфатаз, действующих на АМРК. Кальций-кальмодулин-зависимая протеинкиназа киназа бета (СаМКК $\beta$ ) фосфорилирует и активирует АМРК в ответ на увеличение внутриклеточной концентрации кальция независимо от изменений внутриклеточного соотношения АМФ:АТФ или АДФ:АТФ. Активация АМРК во время мышечных сокращений в основном осуществляется СаМКК $\beta$  [84]. Киназа LKB1 постоянно активна, что обеспечивает базальный уровень фосфорилирования АМРК. Дальнейшая активация АМРК происходит благодаря конформационным изменениям, происходящим при связывании АМФ или АДФ  $\gamma$ -субъединицей АМРК, способствует фосфорилированию Thr 172  $\alpha$ -субъединицы и обеспечивает защиту от дефосфорилирования. Комбинированный эффект фосфорилирования Thr 172  $\alpha$ -субъединицы АМРК и аллостерической регуляции приводит к более чем 1000-кратному увеличению активности АМРК, что делает АМРК высокочувствительной к изменениям энергетического статуса клетки [84].

Известно, что АМФ-активируемая протеинкиназа может фосфорилироваться по сайтам Ser485/491, фосфорилирование по этим сайтам приводит к ингибированию ее активности. Недавно обнаружили, что фосфорилирование АМРК по негативному сайту осуществляет протеинкиназа D и некоторые изоформы протеинкиназы C [27].

В скелетных мышцах человека экспрессируется три варианта АМРК:  $\alpha$ 2 $\beta$ 2 $\gamma$ 1 (65 %),  $\alpha$ 2 $\beta$ 2 $\gamma$ 3 (20 %) и  $\alpha$ 1 $\beta$ 2 $\gamma$ 1 (15 %) [17]. Варианты комбинаций различных изоформ АМРК колеблются в различных типах мышц [112].

Фермент АМРК широко задействован в регуляции метаболизма мышечных клеток и имеет огромное число различных мишеней. АМРК принимает активное участие в регуляции энергетического метаболизма мышцы. Активация АМРК в скелетных мышцах способствует увеличению транспорта глюкозы и усилению синтеза гликогена. При активации АМРК происходит снижение скорости транспорта креатина в клетку. АМРК участвует в регуляции целого ряда реакций, связанных с накоплением и утилизацией АТФ. Вместе с регуляцией метаболизма углеводов АМРК активно участвует в процессах окисления жирных кислот и метаболизма холестерина [1, 66].

Известно, что АМРК может фосфорилировать и активировать Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТФазу, что приводит к усилению транспорта Na<sup>+</sup> из мышечных клеток [23].

АМПК участвует в регуляции экспрессии митохондриальных генов и процессов биогенеза митохондрий путем фосфорилирования белка PGC-1 $\alpha$ , который принимает участие в координации многих метаболических реакций скелетных мышц. Фосфорилирование PGC-1 $\alpha$  с помощью АМПК приводит к активации целого ряда транскрипционных факторов, таких как активируемые пролифераторами пероксисом PRAR факторы; ядерные респираторные факторы NRF-1,2; митохондриальный транскрипционный фактор А (TFAM), факторы MEF и другие [91].

Основной энергетический сенсор клетки АМПК активно участвует в регуляции процессов белкового синтеза и распада [48]. АМПК — это отрицательный регулятор синтеза белка в скелетной мышце. АМПК может ингибировать активность mTOR, ключевого сигнального каскада клетки, регулирующего процессы синтеза белка двумя способами: во-первых, путем фосфорилирования туберозно-склерозного белка-2 (TSC2), в результате которого происходит увеличение ГТФазной активности прямого активатора mTOR — Rheb [57]. Второй механизм осуществляется путем прямого фосфорилирования одной из субъединиц комплекса mTORC1 — белка Raptor [45].

Наряду с тем что АМПК ингибирует процессы белкового синтеза путем снижения активности сигнального пути mTOR, этот фермент также участвует в процессах деградации миофибриллярных белков [88]. В работах К. Nakashima и соавт. было показано, что АМПК участвует в процессах деградации миофибриллярных белков с помощью E3-убиквитин-лигаз (атрогин-1/MAFbx) и MuRF-1 через увеличение экспрессии транскрипционных факторов FOXO [87]. Известен еще один сигнальный путь с участием АМПК, который связан с белком ULk-1, вызывающим аутофагию в скелетных мышцах. ULk-1 — это серин-треониновая протеинкиназа, которая выполняет регуляторную функцию в начальной стадии индукции аутофагии. АМПК фосфорилирует белок ULk1 и инициирует процесс аутофагии [32].

В работах последних лет было показано, что АМПК может влиять на экспрессию ряда генов путем фосфорилирования гистондеацетилаз класса IIa (HDAC4, HDAC5, HDAC7), что приводит к их диссоциации от промоторов генов и удалению из ядра, открывая тем самым путь для экспрессии того или иного гена [75, 79, 95].

Итак, согласно современным представлениям, активность АМПК определяется преимущественно состоянием энергетического метаболизма: увеличивается при повышенном расходе АТФ, накоплении АМФ и истощении гликогена и снижается при накоплении АТФ и гликогена в мышечном волокне. Активная фосфорилированная АМПК фосфорилирует и удерживает гистондеацетилазы класса IIa вне пространства миоядер, тем самым способствуя экспрессии ряда генов, и подавляет активность mTOR и его первичных мишеней (рис. 1). Дефосфорилированные молекулы АМПК, напротив, способствуют импорту гистондеацетилаз в миоядра и супрессии транскрипционной активности зависимых от них генов, одновременно уменьшая степень супрессии mTOR и его мишеней.

## АКТИВНОСТЬ АМПК В УСЛОВИЯХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ РАЗГРУЗКИ

Несмотря на то что АМПК — один из важных регуляторов внутриклеточного метаболизма скелетных мышц млекопитающих, который активно участвует в регуляции процессов синтеза и распада белков, состояние этого

фермента в условиях функциональной разгрузки до последнего времени было изучено явно недостаточно.

В последних работах, в которых исследовали атрофию *m. soleus* крыс и мышей после 7- и 4-дневной денервации, было обнаружено увеличение фосфорилирования АМРК [37, 43], при этом у нокаутов по гену белка АМРК $\alpha$ 1 атрофия не развивалась [43].

Однако в результате длительной инактивации мышц у человека при спинальной травме или длительном постельном режиме изменений фосфорилирования  $\alpha$ -субъединицы не было выявлено, при этом тотальная экспрессия  $\gamma$ 1- и  $\gamma$ 3-изоформ была повышена [65].

Данные литературы о состоянии АМРК в условиях гравитационной разгрузки при использовании стандартной модели вывешивания задних конечностей достаточно противоречивы. Об активности АМРК обычно судят по уровню ее фосфорилирования по треониновому сайту 172 [49, 50, 118]. В то же время в литературе появились данные о том, что уровень фосфорилирования может не очень точно отражать ферментативную активность молекулы [58]. Поэтому часто об активности АМРК судят в том числе и по уровню фосфорилирования основной сигнальной мишени АМРК — АСС [66, 116]. В работах В. Нан и соавт. было показано снижение фосфорилирования АМРК в камбаловидной мышце после 2-недельного антиортостатического вывешивания крыс, а в работе Т. L. Hilder и соавт. было обнаружено увеличение фосфорилирования АМРК при 14-суточном воздействии моделируемой невесомости [47, 52]. Т. Egawa и соавт. не обнаружили изменений фосфорилирования АМРК в камбаловидной мышце мыши после 10-дневного вывешивания задних конечностей [33].

При исследовании активности АМРК в длиннейшей мышце спины мыши после 30-суточного космического полета и 8-суточного восстановления не было обнаружено достоверных изменений уровня фосфорилирования АМРК [7]. По содержанию волокон медленного типа эта мышца мыши сходна с ее камбаловидной мышцей. Обращает на себя внимание тот факт, что в этих работах изучались эффекты достаточно продолжительной экспозиции в условиях реальной или моделируемой невесомости. При этом вопрос о динамике активности/фосфорилирования АМРК оставался открытым. Кроме того, не вполне корректным является сопоставление данных, полученных на камбаловидной мышце крыс и мышей. Известно, что у крыс и у человека в камбаловидной мышце более 85 % медленных волокон, экспрессирующих медленную изоформу тяжелых цепей миозина (ТЦМ), в то время как в этой мышце мышей таких волокон менее 40 % [14].

В доступной литературе до 2015 г. отсутствовали сообщения об изменениях фосфорилирования АМРК при коротких сроках гравитационной разгрузки как в экспериментах с участием человека, так и на животных. В эксперименте с моделированием кратковременного пребывания человека в условиях безопорности проводилось исследование активности АМРК в постральной мышце человека [113]. В этом исследовании впервые было обнаружено снижение фосфорилирования АМФ-активируемой протеинкиназы в мышце человека после 3 суток моделируемой безопорности.

В работе Т. Мирзоева и соавт. проводилась оценка влияния гравитационной разгрузки на уровень фосфорилирования и киназной активности АМРК на 1, 3 и 7-е сутки моделируемой гравитационной разгрузки [80]. Было выявлено глубокое снижение фосфорилирования АМРК (по сайту Thr 172) на 1-х и 3-х сутках антиортостатического вывешивания. В бездействующей мышце может происходить накопление полностью фосфорилированных макроэргических соединений, что способствует снижению активности АМРК. Известно, что

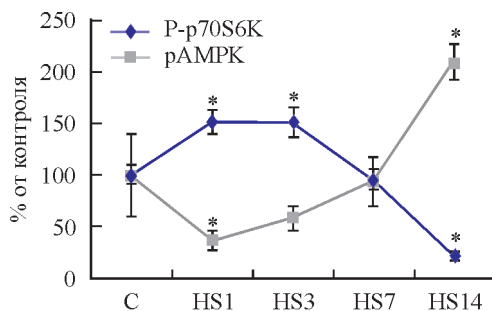


Рис. 2. Содержание P-p70S6K(Thr 389) и pAMPK(Thr 172) в камбаловидной мышце крыс на 1, 3, 7 и 14-е сутки моделируемой гравитационной разгрузки (пояснения в тексте).

связывание гликогена с AMPK приводит к ингибированию ее активности [63]. Поэтому не исключено, что снижение активности AMPK на начальных этапах гравитационной разгрузки может быть связано с повышением концентрации гликогена в постуральных мышцах. E. I. Henriksen и соавт. показали увеличение содержания гликогена в *m. soleus* крысы уже после 12-часового антиортостатического вывешивания, которое длилось до 3 суток [51]. На 7-е сутки гравитационной разгрузки фосфорилирование AMPK не отличается от уровня контрольной группы, что хорошо соотносится с данными о восстановлении сократительной (очевидно, ненагруженной) активности *m. soleus* к 6—7-м суткам воздействия моделируемой невесомости [13]. Увеличения фосфорилирования AMPK (по сайту Thr 172) на 14-е сутки антиортостатического вывешивания, обнаруженное в наших экспериментах, хорошо соотносится с данными работы [13]. Недавно S. F. Zhang и соавт. также наблюдали повышение уровня фосфорилирования AMPK в камбаловидной мышце крыс при 14-суточном вывешивании [124]. Сейчас трудно судить о механизмах, обуславливающих повышение активности AMPK к 14-м суткам вывешивания. Вместе с тем могут быть высказаны некоторые предположения относительно сигнальных механизмов, приводящих к данному феномену. В экспериментах ряда авторов было показано значительное увеличение концентрации интерлейкина-6 (IL6) после экспозиции человека и животных в условиях гравитационной разгрузки. Так, возрастание концентрации этого миокина наблюдалось после 5-суточного вывешивания задних конечностей у крыс и после 14-суточного вывешивания у мышей [42, 121]. A. Chopard и соавт. было показано значительное увеличение концентрации IL-6 у испытуемых во время 60-суточной антиортостатической гипокинезии [85]. Известно, что цитокин IL-6 увеличивает активность AMPK [96], и вполне вероятно, что при длительных сроках воздействия гравитационной разгрузки повышение концентрации IL6 способствует гиперфосфорилированию AMPK. В литературе отмечено, что нейротрофический фактор BDNF также способен увеличивать фосфорилирование AMPK (по сайту Thr 172) в скелетных мышцах [74]. В работах W. Yang и соавт. было показано увеличение экспрессии мРНК нейротрофического фактора BDNF в камбаловидной мышце крысы после 14 суток антиортостатического вывешивания [122]. Вероятно, увеличение фосфорилирования AMPK (по сайту Thr 172) на 14-е сутки вывешивания может быть также связано и с увеличением экспрессии BDNF.

Итак, в экспериментах с вывешиванием крыс различной продолжительности была выявлена сложная нелинейная динамика активности AMPK в постуральной мышце в условиях гравитационной разгрузки (рис. 2).



Учитывая ведущую роль АМПК в регуляции ряда ключевых сигнальных путей в скелетной мышце, проявляющейся в супрессии белкового синтеза через ингибирование киназной активности mTOR, в активации FOXO-зависимой экспрессии ключевых E3-убиквитин-лигаз, в эпигеномном контроле экспрессии важных физиологически активных белков, необходимо оценить влияние изменений активности АМПК на эти процессы в условиях функциональной разгрузки.

## РОЛЬ АМПК В РЕГУЛЯЦИИ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ MTOR/P70S6K И АКТ/FOXO3/MURF-1/MAFBX/ATROGIN-1 В УСЛОВИЯХ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

Анаболические процессы в мышечном волокне регулируются рядом сигнальных путей, наиболее важные из них связаны с функционированием центрального протеинкиназного комплекса mTOR (сокращение от английского mammalian/mechanistic target of rapamycin), который через свои сигнальные мишени (p70S6K, 4eBP, eIF3) стимулирует процессы инициации синтеза белка на рибосомах (см. выше). Активацию синтеза белка на фоне резистивной тренировки связывают с уровнем фосфорилирования протеинкиназы p70S6K, которая активирует/фосфорилирует рибосомальный белок S6, интенсифицирующий инициацию трансляции. Некоторые авторы сообщают о снижении уровня фосфорилирования p70S6K уже после 4—5 суток вывешивания [15, 31]. В большинстве исследований было показано, что даже после 7—10 суток экспозиции в условиях вывешивания уровень фосфорилирования этой мишени mTOR не отличается от контрольного. Эти авторы показывают снижение фосфорилирования рибосомальной киназы только к 14-м суткам вывешивания [24, 44, 73, 106]. Однако только в последние годы был проведен подробный анализ динамики фосфорилирования этого фермента в камбаловидной мышце крысы в условиях моделируемой гравитационной разгрузки (вывешивания задних конечностей) [80]. В этой же работе авторы сопоставили динамику фосфорилирования p70S6K с динамикой фосфорилирования АМПК (Thr 172). Хорошо известно, что АМПК оказывает ингибирующее влияние на анаболические процессы в мышце путем супрессии киназной активности mTORc1 и его эффектора рибосомальной киназы p70S6k [45, 46, 57, 76, 83, 119].

Сравнительный анализ динамики уровня фосфорилирования АМПК (Thr-172) и p70S6K в камбаловидной мышце крысы в условиях моделируемой гравитационной разгрузки показал, что изменения фосфорилированной p70S6K на 1, 3 и 7-е сутки экспозиции обратно пропорциональны изменениям фосфорилирования АМПК, что хорошо укладывается в представление об АМПК как негативном регуляторе mTOR [80]. В этой работе было впервые показано достоверное увеличение содержания фосфорилированной p70S6K в постуральной мышце крысы на 1-х сутках моделируемой гравитационной разгрузки, что хорошо соответствует нашим данным по снижению фосфорилирования АМПК (рис. 2) на этом этапе разгрузки. На 3-х сутках гравитационной разгрузки наблюдается повышенное содержание p-p70S6K, но в меньшей степени, чем на первых сутках воздействия (рис. 2), что хорошо сопоставимо со снижением степени дефосфорилирования АМПК на 3-х сутках воздействия. В этой работе не было выявлено достоверных отличий фосфорилирования p70S6K от уровня контроля на 7-е сутки разгрузки, так же как и в фосфорилировании АМПК (рис. 2). Это хорошо согласуется с исследованиями Т. Sugiura и соавт., в которых сообщалось, что активность p70S6k не меняется после 10 суток

вывешивания. При 14-суточном вывешивании многие авторы наблюдали значительное снижение содержания р-р70S6K по сравнению с контрольной группой [15, 31, 44, 54, 73]. Интересно, что, по данным Т. L. Hilder и соавт. и S. F. Zhang и соавт., уровень фосфорилирования AMPK на этом этапе разгрузки значительно увеличивается [52, 124]. Высокий уровень фосфорилирования AMPK, обнаруженный в конце 2-й недели вывешивания, сопровождается снижением фосфорилирования не только рибосомальной киназы р70S6k, но и Akt (Thr473) и FOXO3, что способствует интенсификации экспрессии мРНК E3-убиквитин лигаз MuRF-1 и MAFbx/atrogin-1 [124]. Эти результаты хорошо согласуются с данными более ранних исследований, свидетельствующих о способности AMPK стимулировать дефосфорилирование FOXO3 и экспрессию E3-убиквитин-лигаз [67, 87].

Результаты сравнительных исследований динамики уровня фосфорилирования AMPK и р70S6K в условиях разгрузки позволяют высказать предположение о том, что увеличение фосфорилирования р70S6K в первые 24 ч воздействия может быть обусловлено низкой активностью AMPK. Эта гипотеза была проверена в работе Н. А. Вильчинской и соавт. [4]. Для этого авторы применили активатор AMPK — AICAR, интенсифицирующий фосфорилирование молекулы по сайту Thr 172 на фоне 1-суточного антиортостатического вывешивания. Предобработка животных инъекциями AICAR в течение 6 суток перед вывешиванием и во время него позволила предотвратить дефосфорилирование (по сайту Thr 172) AMPK после 24-часового вывешивания. При этом после предобработки вывешенных животных инъекциями AICAR уровень фосфорилирования (по сайту Thr 389) р70S6K не отличался от уровня контроля. Такой результат полностью подтвердил высказанную гипотезу и еще раз продемонстрировал роль AMPK как негативного регулятора сигнального пути mTOR [45, 57] также и в условиях гравитационной разгрузки. Полученные в этой работе результаты позволяют считать, что дефосфорилирование AMPK в камбаловидной мышце в начальной стадии разгрузки является одной из причин существенного и парадоксального повышения уровня фосфорилирования р70S6K. Повышение уровня фосфорилирования р70S6K, как правило, считают следствием инактивации эндогенных ингибиторов mTORc1 туберозно-склерозного белка TSC1/2 как в результате прекращения их стимуляции AMPK вследствие ее дефосфорилирования [57], так и в результате накопления сфинголипида церамида [55]. Интересно, что ранее было показано, что активация AMPK с помощью AICAR предотвращает накопление церамида в мышечных волокнах [35]. Поэтому можно предположить, что именно дефосфорилирование AMPK способствует накоплению церамида в m. soleus при гравитационной разгрузке [2, 97]. С. Т. Hsieh и соавт. [55] обнаружили интересные эффекты гиперфосфорилирования р70S6K. Оказалось, что эта рибосомальная киназа способствует фосфорилированию субстрата инсулинового рецептора (IRS1) по сайтам Ser636-639, которое приводит к блокированию киназной активности IRS-1 и соответственно дефосфорилированию ключевой протеинкиназы Akt (рис. 3). Дефосфорилирование Akt по сайту Ser473, как правило, обуславливает повышенную экспрессию тканеспецифичных мышечных E3-убиквитин-лигаз (MuRF-1 и MAFbx/atrogin-1) [103]. Хорошо известно, что даже кратковременная (1—3 суток) гравитационная разгрузка приводит к дефосфорилированию Akt и интенсификации экспрессии маркерных E3-убиквитин-лигаз [59, 80]. По данным ряда авторов, при гравитационной разгрузке наблюдается уменьшение содержания IRS-1 [47, 86]. На основе этих данных, накопленных в литературе к настоящему времени, можно предположить, что дефосфорилирование AMPK в первые сутки гравитацион-

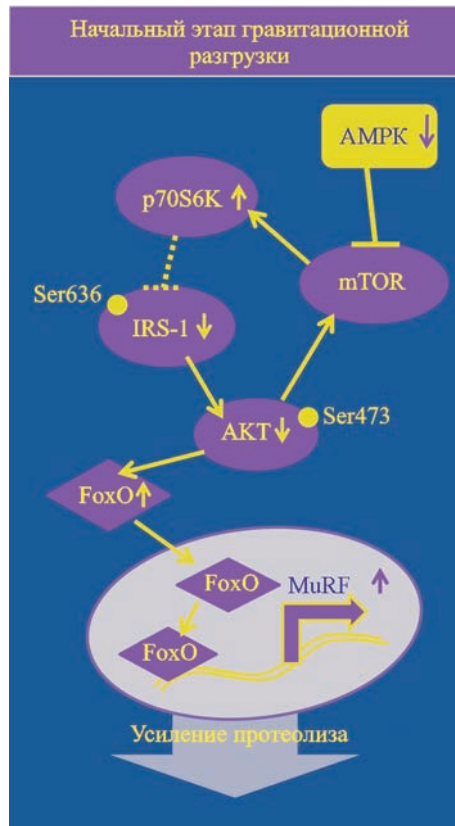


Рис. 3. Гипотетическая роль AMPK в активации сигнальных путей, приводящих к усиленной экспрессии E3-убиквитин-лигаз при гравитационной разгрузке.

ной разгрузки, приводящее к повышению уровня фосфорилирования p70S6K, может в конечном итоге индуцировать повышенную экспрессию E3-убиквитин-лигаз и соответственно интенсификацию распада в мышечных волокнах. Первые результаты наших экспериментов с блокированием фосфорилирования p70S6K в первые сутки моделируемой гравитационной разгрузки по крайней мере не противоречат этой гипотезе: применение рапамицина (ингибитора mTORc1) привело к достоверному снижению экспрессии MuRF-1 и MAFbx/atrogen-1 [100].

Итак, дефосфорилирование AMPK в начальный период моделируемой гравитационной разгрузки приводит к повышению уровня фосфорилирования ключевой рибосомальной киназы p70S6K, что может способствовать последующей интенсификации экспрессии протеолитических ферментов. На более позднем этапе атрофического процесса повышение фосфорилирования AMPK сопровождается снижением фосфорилирования рибосомальной киназы p70S6k и активацией протеолитической сигнальной системы (рис. 2). Этот факт позволяет высказать предположение о том, что и на более поздних этапах гравитационной разгрузки активность AMPK может также выступать в качестве ключевого сигнального звена перестройки белкового баланса.

## АМПК И ФУНКЦИЯ НЕЙРОНАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ ВОЛОКОН М. SOLEUS В УСЛОВИЯХ ГРАВИТАЦИОННОЙ РАЗГРУЗКИ

Одним из наиболее важных последствий гравитационной разгрузки является деструкция цитоскелетных молекул. В первые же дни разгрузки наблюдается распад десминовых промежуточных филаментов [34, 90]. Рядом авторов зарегистрировано снижение относительного содержания титина и небулина в условиях разгрузки [11, 61, 102, 110]. В нашей лаборатории впервые было обнаружено нарушение целостности дистрофинового слоя в субсарколеммальной зоне [38]. Принято считать, что деструкция большинства цитоскелетных молекул осуществляется кальций-зависимыми цистеиновыми протеазами — кальпаинами [56]. Рядом авторов было показано, что физиологические концентрации оксида азота могут также ингибировать активность кальпаинов [69, 78, 98]. Интересно, что активация кальпаинов в условиях реальной или моделируемой невесомости сопровождается понижением содержания нейрональной NO-синтазы в мышечных волокнах камбаловидной мышцы человека и грызунов [82, 99, 107, 109]. Из этого можно заключить, что оксид азота наряду с концентрацией ионов кальция и кальпастатином является основным регулятором кальпаин-зависимого протеолиза цитоскелетных белков. После 2-недельной моделируемой гравитационной разгрузки было показано снижение концентрации NO и уровня экспрессии мРНК nNOS [71] в камбаловидной мышце крысы. В работах нашей лаборатории было показано, что введение предшественника оксида азота L-аргинина крысам при 2-недельном антиортостатическом выведении предотвращает наблюдаемое при микрогравитации падение концентрации NO и уменьшает атрофию камбаловидной мышцы [71, 103].

NO — это сигнальная молекула, регулирующая целый ряд сигнальных каскадов [64, 104]. Образование NO происходит в результате окисления аминокислоты L-аргинина с помощью фермента NO-синтазы (NOS). На активность nNOS могут влиять IRS-1 зависимый сигнальный путь [53] и АМФ-активируемая протеинкиназа [21]. Z. P. Chen и соавт. показали, что АМПК может напрямую фосфорилировать nNOS по остатку Ser 1451. Активация АМПК в скелетных мышцах в ответ на различные стимулы приводит к изменению активности nNOS, что в свою очередь стимулирует изменения различных NO-зависимых процессов в скелетной мышце [21]. Поскольку протеолиз нейрональной NO-синтазы обусловлен действием  $\mu$ -кальпаина [68], ингибитором которого в свою очередь является оксид азота, очевидно, что прогрессивное снижение содержания nNOS в мышечных волокнах должно быть инициировано ранним и существенным снижением уровня фосфорилирования этой молекулы, приводящим к снижению продукции NO. И действительно, уже после трехдневного пребывания в условиях сухой иммерсии у человека в камбаловидной мышце было достоверно снижено содержание фосфорилированной формы nNOS [113]. В этом эксперименте не было обнаружено достоверных изменений содержания субстрата инсулинового рецептора-1 (IRS-1) в m. soleus добровольцев, обследованных до и после 3-суточной «сухой» иммерсии. Это косвенно свидетельствует о том, что снижение уровня фосфорилирования нейрональной NO-синтазы, скорее всего, не вызвано изменениями активности канонического каскада IRS-1/АКТ/mTOR. В то же время в этом исследовании было выявлено глубокое уменьшение содержания фосфорилированной формы АМФ-активированной протеинкиназы (Thr 172) (см. выше). Естествен-

но предположить, что пониженный уровень фосфорилирования АМРК мог привести к понижению активности нейрональной и эндотелиальной NO-синтазы и снижению продукции оксида азота [21].

## АМРК УЧАСТВУЕТ В РЕГУЛЯЦИИ МИОЗИНОВОГО ФЕНОТИПА В УСЛОВИЯХ РАЗГРУЗКИ

Изменения миозинового фенотипа волокон при гравитационной разгрузке обнаруживали многие исследователи. Наблюдается увеличение интенсивности синтеза изоформ миозина быстрого типа и снижение экспрессии медленного миозина в мышцах космонавтов, а также у крыс, отправленных в полет на биоспутнике [8, 16, 36, 101]. В камбаловидной мышце задних конечностей крыс при антиортостатическом вывешивании наблюдается увеличение содержания (%) волокон типа II и уменьшение доли волокон типа I [10, 94, 108]. В пробах камбаловидной мышцы, взятых у астронавтов после 6-месячного полета, было обнаружено снижение доли волокон, экспрессирующих «медленную» изоформу ТЦМ, и увеличение доли волокон, экспрессирующих «быстрые» изоформы [11]. Механизмы регуляции миозинового фенотипа мышечных волокон остаются в значительной степени неизученными. АМРК влияет на экспрессию ряда генов путем фосфорилирования гистондеацетилаз класса IIa (HDAC4, HDAC5, HDAC7), что приводит к их диссоциации от промоторов генов и удалению из ядра, открывая тем самым путь для экспрессии того или иного гена [75, 79, 95]. Было показано, что уже на 1-е сутки воздействия микрогравитации наблюдается снижение экспрессии мРНК медленной изоформы тяжелых цепей миозина [ТЦМ I( $\beta$ )] в камбаловидной мышце крыс [39]. Один из путей регуляции экспрессии ТЦМ в мышечных волокнах связан с фосфорилированием гистондеацетилазы 4 (HDAC4) [75, 95]. Однако остается неясным, при помощи каких механизмов происходит такое быстрое снижение экспрессии генов. Участвует ли АМРК в регуляции экспрессии генов ТЦМ в мышечных волокнах? До последнего времени исследований роли АМРК в регуляции миозинового фенотипа мышечных волокон в условиях функциональной разгрузки не проводилось.

Попытка ответа на эти вопросы была предпринята в эксперименте с предобработкой животных активатором АМРК — АICAR [114]. Было обнаружено достоверное снижение содержания предшественника мРНК ТЦМ I( $\beta$ ) и хорошо выраженная тенденция к снижению содержания зрелой мРНК ТЦМ I( $\beta$ ) после 24 ч экспозиции в условиях разгрузки. Эти данные хорошо согласуются с результатами, полученными в аналогичных условиях на животных линии Sprague—Dawley [39]. Однако при воздействии АICAR снижение содержания предшественника и зрелой мРНК ТЦМ I( $\beta$ ) не происходит.

Поскольку один из возможных механизмов воздействия АМРК на экспрессию генов медленного миозина и ферментов окислительного метаболизма связывают с фосфорилированием/дефосфорилированием гистондеацетилазы-4 и -5 (HDAC4/HDAC5) [75, 95], была высказана гипотеза, предполагающая, что в результате дефосфорилирования АМРК уже на первые сутки вывешивания в ядерной фракции *m. soleus* будут накапливаться HDAC4 и HDAC5. Это предположение подкреплялось результатами исследования ацетилирования гистона H3 при гравитационной разгрузке. С. Е. Pandorf и соавт. обнаружили снижение содержания ацетилированных гистонов, связанных с промотором гена *myh7* после 7-суточного вывешивания [92].

Кроме того, ранее было показано, что в волокнах медленного типа HDAC4 локализована преимущественно в цитоплазме, а в волокнах быстрого

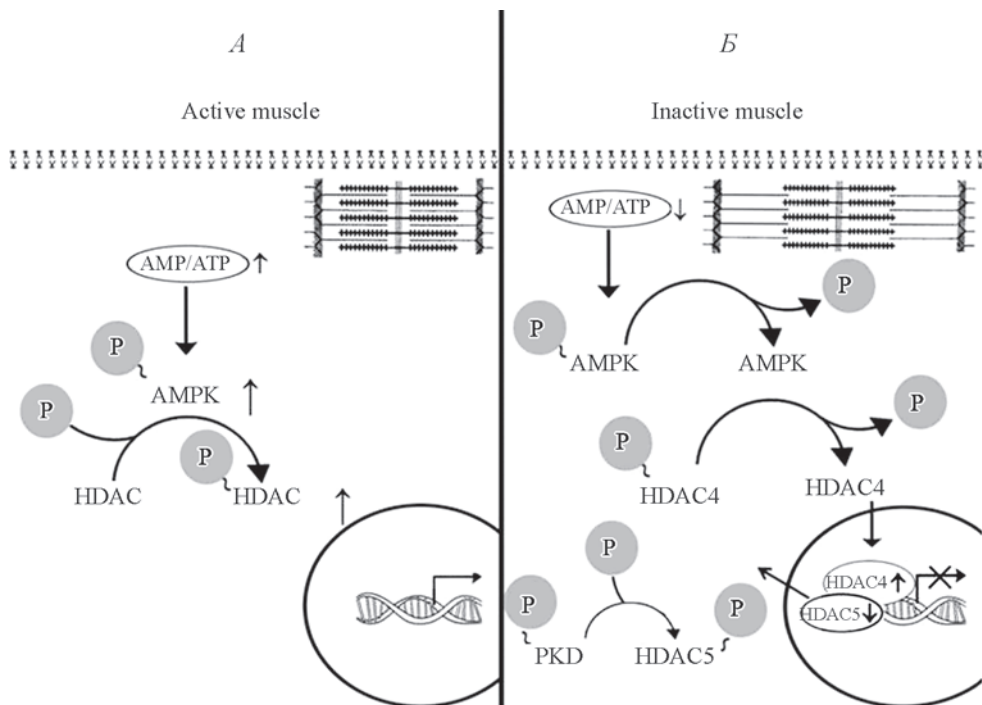


Рис. 4. Роль AMPK в трафике гистондеацетилаз класса IIa активности (А) и неактивности (Б) в камбаловидных мышцах крыс на начальных этапах гравитационной разгрузки.

типа — в ядрах [26]. Действительно, в нашем эксперименте с 24-часовым вывешиванием было обнаружено накопление HDAC4 в ядерной фракции, причем под действием AICAR накопление HDAC4 в ядрах не происходит, что хорошо соотносится с данными по фосфорилированию AMPK и подтверждает гипотезу о AMPK-зависимом контроле ядерно-цитоплазматического траффика HDAC4 [3, 114]. Недавно Т. Yoshihara и соавт. [123] обнаружили накопление HDAC4 в ядрах мышечных волокон *m. gastrocnemius* крысы после 10 дней иммобилизации в голеностопном суставе. Это накопление (как и в эксперименте Н. А. Вильчинской и соавт.) сопровождалось снижением уровня фосфорилирования AMPK [123]. Что касается гистондеацетилазы-5, то даже некоторое повышение активности AMPK при предобработке контрольных животных AICAR сопровождалось уменьшением ее содержания в ядерной фракции. Этот феномен можно связать с фосфорилированием HDAC5 под действием AMPK. Однако в ядерной фракции после 1-суточного вывешивания наблюдалось уменьшение содержания HDAC5. Это уменьшение могло быть вызвано либо ее фосфорилированием и экспортом из ядер, либо ее распадом. HDAC5 является мишенью не только AMPK, но и протеинкиназы D (PKD) [77, 120]. Поскольку после первых суток разгрузки активность AMPK существенно снижена (см. выше), то вряд ли можно связывать экспорт HDAC5 из ядер при разгрузке с действием этой протеинкиназы. Известно, что снижение активности AMPK приводит к значительному увеличению уровня фосфорилирования PKD [77]. И действительно, после 1-суточного вывешивания было обнаружено достоверное и существенное увеличение фосфорилирования PKD по сайту Ser 916 по сравнению с контролем, которое не выявлялось после вывешивания на фоне предобработки AICAR. Интересно, что такое снижение фосфорилирования

PKD в группе вывешивания на фоне предобработки AICAR позволяет в два раза уменьшить потерю ядерной HDAC5. Обращает на себя внимание и то, что увеличение фосфорилирования PKD у вывешенных животных никак не сказывалось на содержании ядерной HDAC4. Очевидно, при гравитационной разгрузке HDAC4 не является мишенью PKD. В этом исследовании впервые удалось наблюдать реципрокные отношения AMPK и PKD в инактивированной мышце. Кроме того, гравитационная разгрузка приводила к повышению уровня негативного фосфорилирования AMPK по сайту Ser485/491, которое связывают с действием PKD [27]. Однако аллостерическая активация AMPK с помощью AICAR снижала интенсивность негативного фосфорилирования, возможно, благодаря снижению фосфорилирования PKD.

Таким образом, результаты эксперимента Н. А. Вильчинской и соавт. ясно свидетельствуют о том, что дефосфорилирование AMPK по сайту Thr 172 в первые сутки моделируемой гравитационной разгрузки оказывает существенное влияние на экспрессию изоформ тяжелых цепей миозина, определяя снижение экспрессии пре-мРНК и мРНК ТЦМ1(β). Полученные в этом эксперименте результаты также свидетельствуют о том, что на ранних сроках гравитационной разгрузки HDAC4 не является мишенью PKD и, вероятно, импорт HDAC4 в ядра осуществляется в результате снижения активности AMPK (рис. 4). Не исключено, что увеличение активности PKD приводит к экспорту HDAC5 из ядер.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, на разных этапах гравитационной разгрузки ключевой энергетический сенсор клетки — АМФ-активируемая протеинкиназа — демонстрирует разнонаправленные изменения в постуральной камбаловидной мышце млекопитающих: глубокое снижение уровня фосфорилирования и киназной активности на ранних этапах процесса и существенный рост активности на более поздних этапах. Таким образом, динамика изменения активности AMPK в таких условиях имеет нелинейный характер и требует более подробного анализа на каждом из этапов функциональной разгрузки. Эксперименты, обсужденные в настоящем обзоре, показывают, что изменения активности AMPK могут иметь значимые последствия для работы ключевых сигнальных систем. В результате снижения активности AMPK на начальном этапе разгрузки происходит парадоксальное гиперфосфорилирование ключевой рибосомальной киназы p70S6k, которое, судя по данным экспериментов *in vitro*, может приводить к активации протеолитических процессов в мышечном волокне [55]. Есть не прямые свидетельства о том, что снижение активности AMPK при разгрузке не позволяет поддерживать нормальный уровень продукции NO в волокне и тем самым может способствовать активации μ-кальпаина и деградации структурной компоненты мышечного тонуса [120]. Снижение уровня фосфорилирования и киназной активности AMPK на ранних этапах разгрузки также влияет на изменение ядерно-цитоплазматического трафика гистондеацетилаз класса ПА, что приводит к снижению экспрессии гена *myh7* (медленной изоформы тяжелых цепей миозина) и, возможно, ряда других генов, контролирующих процессы энергетического метаболизма.

На более позднем этапе атрофического процесса повышение уровня фосфорилирования/активности AMPK сопровождается снижением активности p70S6k [44], дефосфорилированием FOXO3 и повышением экспрессии ключевых ферментов убиквитин-протеасомной системы [9], что, очевидно, должно

приводить к снижению интенсивности белкового синтеза и повышению интенсивности протеолиза.

К сожалению, интенсивные исследования последних лет не позволили пока установить, какие физиологические механизмы (как внутримышечные, так и системные), зависящие от двигательной активности, ответственны за столь сложный нелинейный характер динамики активности АМРК в условиях гравитационной разгрузки. Не исключено, что накопление гликогена [118] или изменение соотношения фосфорилированных и дефосфорилированных макроэргических соединений приводят к глубокому дефосфорилированию АМРК. Остается неясным вопрос о причинах постепенного повышения уровня фосфорилирования АМРК в течение первой недели разгрузки у крыс. Не исключено, что это повышение обусловлено постепенным повышением электрической (и соответственно сократительной, хотя и ненагруженной) активности постуральной мышцы [39]. Пока трудно объяснить существенное повышение уровня фосфорилирования АМРК к концу второй недели разгрузки у крыс. Возможно, что определенную роль в этих процессах играют системные факторы, такие как BDNF и/или интерлейкин-6. На все эти вопросы еще предстоит ответить.

Таким образом, исследования последнего времени позволили выявить ключевую роль АМФ-активируемой протеинкиназы в процессах глубокой перестройки сигнальных путей, определяющей изменения метаболизма, структуры и функции волокон постуральной мышцы в условиях гравитационной разгрузки. Необходимы дальнейшие исследования, которые позволят раскрыть представление о сигнальных механизмах, запускающих, определяющих и лимитирующих развитие атрофии, изменения миозинового фенотипа и структурной атонии постуральной мышцы в этих условиях.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-75-20152.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Астратенкова И. В., Розозкин В. А. Участие АМФ-зависимой протеинкиназы в регуляции метаболизма скелетных мышц. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 99(6): 657—673. 2013.
- [2] Брындина И. Г., Шагалина М. Н., Овечкин С. В., Овчинина Н. Г. Сфинголипиды скелетных мышц мышей C57BL/6 в условиях непродолжительной моделированной гипогравитации. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 100(11): 1280—1286. 2014.
- [3] Вильчинская Н. А., Туртикова О. В., Шенкман Б. С. Механизмы регуляции ядерно-цитоплазматического трафика гистондеацетилазы класса IIА в *m. soleus* крысы на ранних сроках моделируемой гравитационной разгрузки. Биол. мембраны. 34(6): 109—115. 2017.
- [4] Вильчинская Н. А., Мочалова Е. П., Белова С. П., Шенкман Б. С. Дефосфорилирование АМФ-активируемой протеинкиназы в постуральной мышце—ключевое сигнальное событие первых суток функциональной разгрузки. Биофизика. 61(6): 1228—1235. 2016.
- [5] Григорьев А. И., Козловская И. Б., Шенкман Б. С. Роль опорной афферентации в организации тонической мышечной системы. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 90(5): 508—521. 2004.
- [6] Козловская И. Б., Григорьева Л. С., Гевлич Г. И. Сравнительный анализ влияния невесомости и ее моделей на скоростно-силовые свойства и тонус скелетных мышц человека. Космич. биология и авиакосмич. медицина. 18(6): 22—26. 1984.
- [7] Мирзоев Т. М., Вильчинская Н. А., Ломоносова Ю. Н., Немировская Т. Л., Шенкман Б. С. Влияние 30-суточного космического полета и последующей реадаптации на сигнальные процессы в *m. Longissimus Dorsi* мыши. Авиакосмич. и экологич. медицина. 48(2): 12—15. 2014.



- [8] *Оганов В. С., Скуратова С. А., Мурашко Л. М., Губа Ф., Такач О.* Влияние кратковременных космических полетов на физиологические свойства и состав миофибриллярных белков скелетных мышц крыс. *Космич. биология и авиакосмич. медицина.* 22(4): 50—54. 1988.
- [9] *Петрова И. О., Тыганов С. А., Мирзоев Т. М., Цатурян А. К., Козловская И. Б., Шенкман Б. С.* Раннее снижение жесткости *m. soleus* крысы при опорной разгрузке: инактивация поперечных мостиков или активация кальпаина? Докл. АН. 2017. (В печати).
- [10] *Шенкман Б. С.* От медленных к быстрым. Гипогравиационная перестройка миоинового фенотипа мышечных волокон. *ACTA NATURAE.* 8. 3(30): 86—99. 2016.
- [11] *Шенкман Б. С., Подлубная З. А., Выхлянецев И. М., Литвинова К. С., Удальцов С. Н., Немировская Т. Л., Лемешева Ю. С., Мухина А. М., Козловская И. Б.* Сократительные характеристики и белки саркомерного цитоскелета волокон *m. soleus* человека в условиях гравитационной разгрузки. Роль опорного стимула. *Биофизика.* 49(5): 881—890. 2004.
- [12] *Adams G. R., Baldwin K. M.* Age dependence of myosin heavy chain transitions induced by creatine depletion in rat skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* (1985). 78(1): 368—371. 1995.
- [13] *Alford E. K., Roy R. R., Hodgson J. A., Edgerton V. R.* Electromyography of rat soleus, medial gastrocnemius, and tibialis anterior during hind limb suspension. *Exp. Neurol.* 96(3): 635—649. 1987.
- [14] *Augusto V., Padovani R. C., Campos G. E. R.* Skeletal muscle fiber types in C57BL/6J mice. *Braz. J. Morphol. Sci.* 21(2): 89—94. 2004.
- [15] *Bajotto G., Sato Y., Kitaura Y., Shimomura Y.* Effect of branched-chain amino acid supplementation during unloading on regulatory components of protein synthesis in atrophied soleus muscles. *Eur. J. Appl. Physiol.* 111(8): 1815—1828. 2011.
- [16] *Baldwin K. M., Haddad F., Pandorf C. E., Roy R. R., Edgerton V. R.* Alterations in muscle mass and contractile phenotype in response to unloading models: role of transcriptional/pretranslational mechanisms. *Front. Physiol.* 4: 284. 2013.
- [17] *Birk J. B., Wojtaszewski J. F.* Predominant a2/b2/g3 AMPK activation during exercise in human skeletal muscle. *J. Physiol.* 577: 1021—1032. 2006.
- [18] *Bodine S. C.* Disuse-induced muscle wasting. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 45(10): 2200—2208. 2013.
- [19] *Carling D., Thornton C., Woods A., Sanders M. J.* AMP-activated protein kinase: new regulation, new roles? *Biochem. J.* 445(1): 11—27. 2012.
- [20] *Chen L., Jiao Z. H., Zheng L. S., Zhang Y. Y., Xie S. T., Wang Z. X., Wu J. W.* Structural insight into the autoinhibition mechanism of AMP-activated protein kinase. *Nature.* 459: 1146—1149. 2009.
- [21] *Chen Z. P., McConell G. K., Belinda J., Snow R. J., Snow R. J., Canny B. J., Kemp B. E.* AMPK signaling in contracting human skeletal muscle: acetyl-CoA carboxylase and NO synthase phosphorylation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279: 1202—1206. 2000.
- [22] *Cheung P. C., Salt I. P., Davies S. P., Hardie D. G., Carling D.* Characterization of AMP-activated protein kinase gamma-subunit isoforms and their role in AMP binding. *Biochem. J.* 346: 659—669. 2000.
- [23] *Chibalin A. V., Benziane B., Zakyranova G. F., Kravtsova V. V., Krivoi I. I.* Early endplate remodeling and skeletal muscle signaling events following rat hindlimb suspension. *J. Cell. Physiol.* doi: 10.1002/jcp.26594. 2018.
- [24] *Childs T. E., Spangenburg E. E., Vyas D. R., Booth F. W.* Temporal alterations in protein signaling cascades during recovery from muscle atrophy. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 285(2): 391—398. 2003.
- [25] *Chopard A., Hillock S., Jasmin B. J.* Molecular events and signalling pathways involved in skeletal muscle disuse-induced atrophy and the impact of countermeasures. *J. Cell Mol. Med.* 13. (N9B): 3032—3050. 2009.
- [26] *Cohen T. J., Choi M. C., Kapur M., Lira V. A., Lira V. A., Yan Z., Yao T. P.* HDAC4 regulates muscle fiber type-specific gene expression programs. *Mol. Cells.* 38: 343—348. 2015.
- [27] *Coughlan K. A., Valentine R. J., Sudit B. S., Allen K., Dagon Y., Kahn B. B., Ruderman N. B., Saha A. K.* PKD1 Inhibits AMPK $\alpha$ 2 through phosphorylation of serine 491 and impairs insulin signaling in skeletal muscle cells. *Biochem. J.* 473: 4681—4697. 2016.

- [28] *De-Doncker L., Kasri M., Picquet F., Falempin M.* Physiologically adaptive changes of the L5 afferent neurogram and of the rat soleus EMG activity during 14 days of hindlimb unloading and recovery. *J. Exp. Biol.* 208: 4585—4592. 2005.
- [29] *Desplanches D., Kayar S. R., Sempore B., Flandrois R., Hoppeler H.* Rat soleus muscle ultrastructure after hindlimb suspension. *J. Appl. Physiol.* (1985). 69(2): 504—508. 1990.
- [30] *Desplanches D., Mayet M. H., Sempore B., Flandrois R.* Structural and functional responses to prolonged hindlimb suspension in rat muscle. *J. Appl. Physiol.* (1985). 63(2): 558—563. 1987.
- [31] *Dupont E., Cieniewski-Bernard C., Bastide B., Stevens L.* Electrostimulation during hindlimb unloading modulates PI3K-AKT downstream targets without preventing soleus atrophy and restores slow phenotype through ERK. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 300: 408—417. 2011.
- [32] *Egan D., Kim J., Shaw R. J., Guan K. L.* The autophagy initiating kinase ULK1 is regulated via opposing phosphorylation by AMPK and mTOR. *Autophagy.* 7(6): 643—644. 2011.
- [33] *Egawa T. A., Goto Y., Ohno S., Yokoyama S., Ikuta A., Suzuki M., Sugiura T., Ohira Y., Yoshioka T., Hayashi T., Goto K.* Involvement of AMPK in regulating slow-twitch muscle atrophy during hindlimb unloading in mice. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 309: 651—662. 2015.
- [34] *Enns D. L., Raastad T., Ugelstad I., Belcastro A. N.* Calpain/calpastatin activities and substrate depletion patterns during hindlimb unweighting and reweighting in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* 100(4): 445—455. 2007.
- [35] *Erickson K. A., Smith M. E., Anthonymuthu T. S., Evanson M. J., Brassfield E. S., Hodson A. E., Bressler M. A., Tucker B. J., Thatcher M. O., Prince J. T., Hancock C. R., Bikman B. T.* AICAR inhibits ceramide biosynthesis in skeletal muscle. *Diabetol. Metab. Syndr.* 4(1): 45. 2012.
- [36] *Fitts R. H., Riley D. R., Widrick J. J.* Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* (1985). 89(2): 823—839. 2000.
- [37] *Gao H., Li Y. F.* Distinct signal transductions in fast- and slow- twitch muscles upon denervation. *Physiol. Rep.* 6(4): doi: 10.14814/phy2.13606. 2018.
- [38] *Gasnikova N. M., Shenkman B. S.* Influence of rat hindlimb suspension on sarcolemmal dystrophin and its sensitivity to mechanical damage. *J. Gravit. Physiol.* 12: 125—126. 2005.
- [39] *Giger J. M., Bodell P. W., Zeng M., Baldwin K. M., Haddad F.* Rapid muscle atrophy response to unloading: pretranslational processes involving MHC and actin. *J. Appl. Physiol.* (1985). 107: 1204—1212. 2009.
- [40] *Goransson O., McBride A., Hawley S. A., Ross F. A., Shpiro N., Foretz M., Viollet B., Hardie D. G., Sakamoto K.* Mechanism of action of A-769662, a valuable tool for activation of AMP-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.* 282: 32 549—32 560. 2007.
- [41] *Gordon S. E., Flück M., Booth F. W.* Selected contribution: Skeletal muscle focal adhesion kinase, paxillin, and serum response factor are loading dependent. *J. Appl. Physiol.* (1985). 90: 1174—1183. 2001.
- [42] *Grano M., Mori G., Minielli V., Barou O., Colucci S., Giannelli G., Alexandre C., Zallone A. Z., Vico L.* Rat hindlimb unloading by tail suspension reduces osteoblast differentiation, induces IL-6 secretion, and increases bone resorption in ex vivo cultures. *Calcif. Tissue Int.* 70(3): 176—185. 2002.
- [43] *Guo Y., Meng J., Tang Y., Wang T., Wei B., Feng R., Gong B., Wang H., Ji G., Lu Z.* AMP-activated kinase  $\alpha 2$  deficiency protects mice from denervation-induced skeletal muscle atrophy. *Arch. Biochem. Biophys.* 600: 56—60. 2016.
- [44] *Gwag T., Lee K., Ju H., Shin H., Lee J. W., Choi I.* Stress and signaling responses of rat skeletal muscle to brief endurance exercise during hindlimb unloading: a catch-up process for atrophied muscle. *Cell Physiol. Biochem.* 24: 537—546. 2009.
- [45] *Gwinn D. M., Shackelford D. B., Egan D. F., Mihaylova M. M., Mery A., Vasquez D. S., Turk B. E., Shaw R. J.* AMPK phosphorylation of raptor mediates a metabolic checkpoint. *Mol. Cell.* 30(2): 214—226. 2008.
- [46] *Hamilton D. L., Philp A., MacKenzie M. G., Patton A., Towler M. C., Gallagher I. J., Bodine S. C., Baar K.* Molecular brakes regulating mTORC1 activation in skeletal muscle following synergist ablation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 307(4): E365—E373. 2014.

- [47] Han B., Zhu M. J., Ma C., Du M. Rat hindlimb unloading down-regulates insulin like growth factor-1 signaling and AMP-activated protein kinase, and leads to severe atrophy of the soleus muscle. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 32(6): 1115—1123. 2007.
- [48] Hardie D. G., Ross F. A., Hawley S. A. AMP-activated protein kinase: a target for drugs both ancient and modern. *Chem. Biol.* 19(10): 1222—1236. 2012.
- [49] Hawley S. A., Boudeau J., Reid J. L., Mustard K. J., Udd L., Mäkelä T. P., Alessi D. R., Hardie D. G. Complexes between the LKB1 tumor suppressor, STRAD alpha/beta and MO25 alpha/beta are upstream kinases in the AMP-activated protein kinase cascade. *J. Biol.* 2(4): 28. 2003.
- [50] Hawley S. A., Pan D. A., Mustard K. J., Ross L., Bain J., Edelman A. M., Frengueli B. G., Hardie D. G. Calmodulin-dependent protein kinase kinase-beta is an alternative upstream kinase for AMP-activated protein kinase. *Cell. Metab.* 2(1): 9—19. 2005.
- [51] Henriksen E. J., Tischler M. E. Time course of the response of carbohydrate metabolism to unloading of the soleus. *Metabolism.* 37(3): 201—208. 1988.
- [52] Hilder T. L., Baer L. A., Fuller P. M., Fuller C. A., Grindeland R. E., Wade C. E., Graves L. M. Insulin-independent pathways mediating glucose uptake in hindlimb-suspended skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* (1985). 99(6): 2181—2188. 2005.
- [53] Hinchee-Rodriguez K., Garg N., Venkatakrishnan P., Roman M.G., Roman M. G., Adamo M. L., Masters B. S., Roman L. J. Neuronal nitric oxide synthase is phosphorylated in response to insulin stimulation in skeletal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 435: 501—505. 2013.
- [54] Hornberger T. A., Hunter R. B., Kandarian S. C., Esser K. A. Regulation of translation factors during hindlimb unloading and denervation of skeletal muscle in rats. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 281(1): 179—187. 2001.
- [55] Hsieh C. T., Chuang J. H., Yang W. C., Yin Y., Lin Y. Ceramide inhibits insulin-stimulated Akt phosphorylation through activation of Rheb/mTORC1/S6K signaling in skeletal muscle. *Cell. Signal.* 26(7): 1400—1408. 2014.
- [56] Huang J., Zhu X. The molecular mechanisms of calpains action on skeletal muscle atrophy. *Physiol. Res.* 65(4): 547—560. 2016.
- [57] Inoki K., Zhu T., Guan K. L. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell.* 115(5): 577—590. 2003.
- [58] Jensen J., O'Rahilly S. AMPK is required for exercise to enhance insulin sensitivity in skeletal muscles. *Mol. Metab.* 6(4): 315—316. 2017.
- [59] Kachaeva E. V., Shenkman B. S. Various jobs of proteolytic enzymes in skeletal muscle during unloading: facts and speculations. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012;doi:10.1155/2012/493618. 2011.
- [60] Kandarian S. C., Stevenson E. J. Molecular events in skeletal muscle during disuse atrophy. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 30(3): 111—116. 2002.
- [61] Kasper C. E., Xun L. Expression of titin in skeletal muscle varies with hind-limb unloading. *Biol. Res. Nurs.* 2(2): 107—115. 2000.
- [62] Kawano F., Matsuoka Y., Oke Y., Higo Y., Terada M., Wang X. D., Nakai N., Fukuda H., Imajoh-Ohmi S., Ohira Y. Role(s) of nucleoli and phosphorylation of ribosomal protein S6 and/or HSP27 in the regulation of muscle mass. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 293(1): 35—44. 2007.
- [63] Koay A., Woodcroft B., Petrie E. J., Yue H., Emanuelle S., Bieri M., Bailey M. F., Hargreaves M., Park J. T., Park K. H., Ralph S., Neumann D., Stapleton D., Gooley P. R. AMPK beta subunits display isoform specific affinities for carbohydrates. *FEBS Lett.* 584(15): 3499—3503. 2010.
- [64] Kobzik L., Reid M. B., Bredt D. S., Stamler J. S. Nitric oxide in skeletal muscle. *Nature.* 372(6506): 546—548. 1994.
- [65] Kostovski E., Boon H., Hjeltnes N., Lundell L. S., Ahlsén M., Chibalin A. V., Krook A., Iversen P. O., Widegren U. Altered content of AMP-activated protein kinase isoforms in skeletal muscle from spinal cord injured subjects. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* Vol. 305(9): E1071—E1080. 2013.
- [66] Krämer D. K., Al-Khalili L., Guigas B., Leng Y., Garcia-Roves P. M., Krook A. Role of AMP kinase and PPARdelta in the regulation of lipid and glucose metabolism in human skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* 282. (27): 19 313—19 320. 2007.

- [67] *Krawiec B. J., Nystrom G. J., Frost R. A., Jefferson L. S., Lang C. H.* AMP-activated protein kinase agonists increase mRNA content of the muscle-specific ubiquitin ligases MAFbx and MuRF1 in C2C12 cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 292(6): E1555—E1567. 2007.
- [68] *Lainé R., de Montellano P. R.* Neuronal nitric oxide synthase isoforms alpha and mu are closely related calpain-sensitive proteins. *Mol Pharmacol.* 54(2): 305—312. 1998.
- [69] *Liu R., Li Y., Wang M., Zhou G., Zhang W.* Effect of protein S-nitrosylation on autolysis and catalytic ability of  $\mu$ -calpain. *Food Chem.* 213: 470—477. 2016.
- [70] *Liu Y., Randall W. R., Martin F., Schneider M. F.* Activity-dependent and -independent nuclear fluxes of HDAC4 mediated by different kinases in adult skeletal muscle. *J. Cell Biol.* 168(6): 887—897. 2005.
- [71] *Lomonosova Y. N., Kalamkarov G. R., Bugrova A. E., Shevchenko T. F., Kartashkina N. L., Lysenko E. A., Shvets V. I., Nemirovskaya T. L.* Protective effect of L-arginine administration on proteins of unloaded m. soleus. *Biochemistry (Mosc.)*. 76: 571—580. 2011.
- [72] *Lomonosova Y. N., Turtikova O. V., Shenkman B. S.* Reduced expression of MyHC slow isoform in rat soleus during unloading is accompanied by alterations of endogenous inhibitors of calcineurin/NFAT signaling pathway. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 37: 7—16. 2016.
- [73] *Lysenko E. A., Turtikova O. V., Kachaeva E. V., Ushakov I. B., Shenkman B. S.* Time course of ribosomal kinase activity during hindlimb unloading. *Dokl. Biochem. Biophys.* 434: 223—226. 2010.
- [74] *Mathews V. B., Aström M. B., Chan M. H., Bruce C. R., Krabbe K. S., Prelovsek O., Akerström T., Yfanti C., Broholm C., Mortensen O. H., Penkowa M., Hojman P., Zankari A., Watt M. J., Bruunsgaard H., Pedersen B. K., Febbraio M. A.* Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase. *Diabetologia.* 52(7): 1409—1418. 2009.
- [75] *McGee S. L., Hargreaves M.* AMPK-mediated regulation of transcription in skeletal muscle. *Clin. Sci. (London)*. 118(8): 507—518. 2010.
- [76] *McGee S. L., Mustard K. J., Hardie D. G., Baar K.* Normal hypertrophy accompanied by phosphorylation and activation of AMP-activated protein kinase alpha1 following overload in LKB1 knockout mice. *J. Physiol.* 586: 1731—1741. 2008.
- [77] *McGee S. L., Swinton C., Morrison S., Gaur V., Gaur V., Campbell D. E., Jorgensen S. B., Kemp B. E., Baar K., Steinberg G. R., Hargreaves M.* Compensatory regulation of HDAC5 in muscle maintains metabolic adaptive responses and metabolism in response to energetic stress. *Faseb J.* 28: 3384—3395. 2014.
- [78] *Michetti M., Salamino F., Melloni E., Pontremoli S.* Reversible inactivation of calpain isoforms by nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 207(3): 1009—1014. 1995.
- [79] *Mihaylova M. M., Shaw R. J.* The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism. *Nat. Cell Biol.* 13(9): 1016—1023. 2011.
- [80] *Mirzoev T., Tyganov S., Vilchinskaya N., Lomonosova Y., Shenkman B.* Key markers of mTORC1-dependent and mTORC1-independent signaling pathways regulating protein synthesis in rat soleus muscle during early stages of hindlimb unloading. *Cell. Physiol. Biochem.* 39: 1011—1020. 2016.
- [81] *Moukhina A. M., Shenkman B. S., Blottner D., Nemirovskaya T., Lemesheva Y., Püttmann B., Kozlovskaya I.* Effects of support stimulation on human soleus fiber characteristics during exposure to dry immersion. *J. Gravit. Physiol.* 11: 137—138. 2004.
- [82] *Mounier R., Lantier L., Leclerc J., Sotiropoulos A., Foretz M., Viollet B.* Antagonistic control of muscle cell size by AMPK and mTORC1. *Cell Cycle.* 10(16): 2640—2646. 2011.
- [83] *Mounier R., Lantier L., Leclerc J., Sotiropoulos A., Pende M., Daegelen D., Sakamoto K., Foretz M., Viollet B.* Important role for AMPKalpha1 in limiting skeletal muscle cell hypertrophy. *FASEB J.* 23: 2264—2273. 2009.
- [84] *Mounier R., Théret M., Lantier L., Foretz M., Viollet B.* Expanding roles for AMPK in skeletal muscle plasticity. *Trends Endocrinol. Metab.* 26(6): 275—286. 2015.
- [85] *Mutin-Carnino M., Carnino A., Roffino S., Chopard A.* Effect of muscle unloading, reloading and exercise on inflammation during a head-down bed rest. *Int. J. Sports. Med.* 35(1): 28—34. 2014.

- [86] Nakao R., Hirasaka K., Goto J., Ishidoh K., Yamada C., Ohno A., Okumura Y., Nonaka I., Yasutomo K., Baldwin K. M., Kominami E., Higashibata A., Nagano K., Tanaka K., Yasui N., Mills E. M., Takeda S., Nikawa T. Ubiquitin ligase Cbl-b is a negative regulator for insulin-like growth factor 1 signaling during muscle atrophy caused by unloading. *Mol. Cell. Biol.* 29(17): 4798—4811. 2009.
- [87] Nakashima K., Yakabe Y., Ishida A., Katsumata M. Effects of orally administered glycine on myofibrillar proteolysis and expression of proteolytic-related genes of skeletal muscle in chicks. *Amino Acids.* 35(2): 451—456. 2008.
- [88] Nystrom G. J., Lang C. H. Sepsis and AMPK activation by AICAR differentially regulate FoxO-1, -3 and -4 mRNA in striated muscle. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 1(1): 50—63. 2008.
- [89] Ogneva I. V. The transversal stiffness of fibers and the desmin content in the leg muscles of rats under gravitational unloading of various duration. *J. Appl. Physiol.* (1985). 109: 1702—1709. 2010.
- [90] Ohira Y., Yasui W., Kariya F., Wakatsuki T., Nakamura K., Asakura T., Edgerton V. R. Metabolic adaptation of skeletal muscles to gravitational unloading. *Acta Astronaut.* 33: 113—117. 1994.
- [91] Olesen J., Küllerich K., Pilegaard H. PGC-1alpha-mediated adaptations in skeletal muscle. *Pflügers. Arch.* 460(1): 153—162. 2010.
- [92] Pandorf C. E., Haddad F., Wright C., Bodell P. W., Baldwin K. M. Differential epigenetic modifications of histones at the myosin heavy chain genes in fast and slow skeletal muscle fibers and in response to muscle unloading. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 297: 6—16. 2009.
- [93] Pang T., Xiong B., Li J. Y., Qiu B. Y., Jin G. Z., Shen J. K., Li J. Conserved alpha-helix acts as autoinhibitory sequence in AMP-activated protein kinase alpha subunits. *J. Biol. Chem.* 282: 495—506. 2007.
- [94] Riley D. A., Slocum G. R., Bain J. L., Sedlak F. R., Sedlak F. R., Sowa T. E., Mendenhall J. W. Rat hindlimb unloading: soleus histochemistry, ultrastructure, and electromyography. *J. Appl. Physiol.* (1985). 69(1): 58—66. 1990.
- [95] Röckl K. S., Hirshman M. F., Brandauer J., Fujii N., Witters L. A., Goodyear L. J. Skeletal muscle adaptation to exercise training: AMP-activated protein kinase mediates muscle fiber type shift. *Diabetes.* 56(8): 2062—2069. 2007.
- [96] Ruderman N. B., Keller C., Richard A. M., Saha A. K., Luo Z., Xiang X., Giralto M., Ritov V. B., Menshikova E. V., Kelley D. E., Hidalgo J., Pedersen B. K., Kelly M. Interleukin-6 regulation of AMP-activated protein kinase. Potential role in the systemic response to exercise and prevention of the metabolic syndrome. *Diabetes.* 55(2): S48—S54. 2006.
- [97] Salaun E., Lefevre-Orfila L., Cavey T., Martin B., Turlin B., Ropert M., Loreal O., Derbré F. Myriocin prevents muscle ceramide accumulation but not muscle fiber atrophy during short-term mechanical unloading. *J. Appl. Physiol.* (1985). 120(2): 178—187. 2016.
- [98] Samengo G., Avik A., Fedor B., Whittaker D., Myung K. H., Wehling-Henricks M., Tidball J. G. Age-related loss of nitric oxide synthase in skeletal muscle causes reductions in calpain S-nitrosylation that increase myofibril degradation and sarcopenia. *Aging. Cell.* 11(6): 1036—1045. 2012.
- [99] Sandonà D., Desaphy J. F., Camerino G. M., Bianchini E., Bianchini E., Ciciliot S., Danielli-Betto D., Dobrowolny G., Furlan S., Germinario E., Goto K., Gutschmann M., Kawano F., Nakai N., Ohira T., Ohno Y., Picard A., Salanova M., Schiffl G., Blottner D., Musarò A., Ohira Y., Betto R., Conte D., Schiaffino S. Adaptation of mouse skeletal muscle to long-term microgravity in the MDS mission. *PLoS ONE.* 7: e33232. 2012.
- [100] Shenkman B., Vilchinskaya N., Mochalova E., Belova I. S., Nemirovskaya T. Signaling events at the early stage of muscle disuse. *FEBS J.* 284. (Suppl. 1): 367. DOI: 10.1111/febs.14174. 2017.
- [101] Shenkman B. S., Nemirovskaya T. L. Calcium-dependent signaling mechanisms and soleus fiber remodeling under gravitational unloading. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 29: 221—230. 2008.
- [102] Shenkman B. S., Nemirovskaya T. L., Belozeroва I. N., Vikhlyantsev I. M., Matveeva O. A., Staroverova K. S., Podlubnaya Z. A. Effects of Ca<sup>2+</sup>(-)-binding agent on unloaded rat soleus: muscle morphology and sarcomeric titin content. *J. Gravit. Physiol.* 9(1): 139—140. 2002.
- [103] Shenkman B. S., Nemirovskaya T. L., Lomonosova Y. N. No-dependent signaling pathways in unloaded skeletal muscle. *Front. Physiol.* 6: 298. 2015.

- [104] *Stamler J. S.* Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide. *Cell*. 78(6): 931—936. 1994.
- [105] *Stevens L., Sultan K. R., Peucker H., Gohlsch B., Mounier Y., Pette D.* Time dependent changes in myosin heavy chain mRNA and protein isoforms 94 in unloaded soleus muscle of rat. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 277(6, pt 1): 1044—1049. 1999.
- [106] *Sugiura T., Abe N., Nagano M. Goto K., Sakuma K., Naito H., Yoshioka T., Powers S. K.* Changes in PKB/Akt and calcineurin signaling during recovery in atrophied soleus muscle induced by unloading. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288(5): 1273—1278. 2005.
- [107] *Suzuki N., Motohashi N., Uezumi A., Fukada S., Yoshimura T., Itoyama Y., Aoki M., Miyagoe-Suzuki Y., Takeda S.* NO production results in suspension-induced muscle atrophy through dislocation of neuronal NOS. *J. Clin. Invest.* 117: 2468—2476. 2007.
- [108] *Templeton G. H., Sweeney H. L., Timson B. F., Padalino M., Dudenhoefter G. A.* Changes in fiber composition of soleus muscle during rat hindlimb suspension. *J. Appl. Physiol.* (1985). 65(3): 1191—1195. 1988.
- [109] *Tidball J. G., Lavergne E., Lau K. S., Spencer M. J., Spencer M. J., Stull J. T., Wehling M.* Mechanical loading regulates NOS expression and activity in developing and adult skeletal muscle. *Am. J. Physiol.* 275: 260—266. 1998.
- [110] *Toursel T., Stevens L., Granzier H., Mounier Y.* Passive tension of rat skeletal soleus muscle fibers: effects of unloading conditions. *J. Appl. Physiol.* (1985). 92(4): 1465—1472. 2002.
- [111] *Trappe S., Costill D., Gallagher P., Creer A., Peters J. R., Evans H., Riley D. A., Fitts R. H.* Exercise in space: human skeletal muscle after 6 months aboard the International Space Station. *J. Appl. Physiol.* (1985). 106(4): 1159—1168. 2009.
- [112] *Treebak J. T., Birk J. B., Hansen B. F., Hansen B. F., Olsen G. S., Wojtaszewski J. F. A-769662* activates AMPK  $\beta$ 1-containing complexes but induces glucose uptake through a PI3-kinase-dependent pathway in mouse skeletal muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 297: C1041—C1052. 2009.
- [113] *Vilchinskaya N. A., Mirzoev T. M., Lomonosova Y. N., Kozlovskaya I. B., Shenkman B. S.* Human muscle signaling responses to 3-day head-out dry immersion. *J. Musculoskel. Neuronal. Interact.* 15(3): 286—293. 2015.
- [114] *Vilchinskaya N. A., Mochalova E. P., Nemirovskaya T. L., Mirzoev T. M., Turtikova O. V., Shenkman B. S.* Rapid decline in MyHC I( $\beta$ ) mRNA expression in rat soleus during hindlimb unloading is associated with AMPK dephosphorylation. *J. Physiol.* 595(23): 7123—7134. 2017.
- [115] *Wakatsuki T., Ohira Y., Yasui W., Nakamura K., Asakura T., Ohno H., Yamamoto M.* Responses of contractile properties in rat soleus to high-energy phosphates and/or unloading. *Jpn. J. Physiol.* 44(2): 193—204. 1994.
- [116] *Winder W. W., Wilson H. A., Hardie D. G., Rasmussen B. B., Hutber C. A., Call G. B., Clayton R. D., Conley L. M., Yoon S., Zhou B.* Phosphorylation of rat muscle acetyl-CoA carboxylase by AMP-activated protein kinase and protein kinase A. *J. Appl. Physiol.* (1985). 82: 219—225. 1997.
- [117] *Witczak C. A., Sharoff C. G., Goodyear L. J.* AMP-activated protein kinase in skeletal muscle: from structure and localization to its role as a master regulator of cellular metabolism. *Cell Mol. Life Sci.* 65(23): 3737—3755. 2008.
- [118] *Woods A., Vertommen D., Neumann D., Turk R., Bayliss J., Schlattner U., Wallimann T., Carling D., Rider M. H.* Identification of phosphorylation sites in AMP-activated protein kinase (AMPK) for upstream AMPK kinases and study of their roles by site-directed mutagenesis. *J. Biol. Chem.* 278(31): 28434—28442.
- [119] *Xu J., Ji J., Yan X. H.* Cross-talk between AMPK and mTOR in regulating energy balance. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 52(5): 373—381. 2012.
- [120] *Ya F., Rubin C. S.* Protein kinase D: coupling extracellular stimuli to the regulation of cell physiology. *EMBO Reports.* 12: 785—796. 2011.
- [121] *Yakabe M., Ogawa S., Ota H., Iijima K., Eto M., Ouchi Y., Akishita M.* Inhibition of interleukin-6 decreases atrogenic expression and ameliorates tail suspension-induced skeletal muscle atrophy. *PLoS One.* 13(1): e0191318. doi: 10.1371/journal.pone.0191318. 2018.
- [122] *Yang W., Zhang H.* Effects of hindlimb unloading on neurotrophins in the rat spinal cord and soleus muscle. *Brain Res.* 1630: 1—9. 2016.

[123] *Yoshihara T., Machida S., Kurosaka Y., Kakigi R., Sugiura T., Naito H.* Immobilization induces nuclear accumulation of HDAC4 in rat skeletal muscle. *J. Physiol. Sci.* 66: 337—343. 2016.

[124] *Zhang S. F., Zhang Y., Li B., Chen N.* Physical inactivity induces the atrophy of skeletal muscle of rats through activating AMPK/FoxO3 signal pathway. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 22(1): 199—209. 2018.

Поступила 17 V 2018