

РОЛЬ СТРЕССА ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА В ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ КЛЕТОК МЕЗЕНХИМНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Обзор

© 2022 Е.П. Турищева*, М.С. Вильданова, Г.Е. Онищенко, Е.А. Смирнова

*Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, биологический факультет,
119991 Москва, Россия; электронная почта: kitten-caterina@yandex.ru*

Поступила в редакцию 05.05.2022

После доработки 28.06.2022

Принята к публикации 30.06.2022

Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) — это мультифункциональный мембранный компартмент, одной из основных функций которого является котрансляционный перенос и процессинг секреторных, лизосомных и трансмембранных белков. Неправильный процессинг белков при нарушении гомеостаза ЭПР приводит к состоянию, которое называется «стресс ЭПР». Для восстановления нормально функционирования ЭПР активируется адаптивный механизм, который обозначают как ответ на неправильно свернутые белки или UPR. Помимо контроля сворачивания белков, UPR играет ключевую роль в других физиологических процессах, в частности в дифференцировке клеток соединительнотканного, мышечного, эпителиального и нейрального происхождения. Однако дифференцировку стимулирует только физиологический уровень стресса ЭПР, в то время как его повышенный уровень подавляет дифференцировку и может вызвать гибель клеток. Следует отметить, что до настоящего времени неизвестно, является ли активация UPR индуктором дифференцировки клеток или же UPR запускается из-за повышенного синтеза секреторных белков в процессе дифференцировки. Дифференцировка клеток является важным этапом в развитии многоклеточных организмов, поэтому этот процесс строго контролируется. Подавление или, наоборот, избыточная активация дифференцировки ведут к развитию патологических процессов в организме. В частности, нарушения в ходе дифференцировки клеток соединительнотканного происхождения ведут к развитию таких заболеваний, как фиброз, ожирение и остеопороз. Фиброз в настоящее время вызывает особый интерес, так как является одним из основных последствий COVID-19. В связи с этим изучение роли UPR в активации дифференцировки представляет как теоретический, так и практический интерес, так как может привести к идентификации потенциальных молекулярных мишеней, позволяющих селективно регулировать разные этапы дифференцировки и воздействовать на механизмы, ведущие к развитию патологических процессов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: эндоплазматический ретикулум, дифференцировка, стресс эндоплазматического ретикулума, UPR, миофибробласты, фиброз, адипогенез, миогенез, остеобластогенез, остеокластогенез.

DOI: 10.31857/S0320972522090032, **EDN:** AZTMDJ

Принятые сокращения: ПТГ – паратиреоидный гормон; ЭПР – эндоплазматический ретикулум; ATF4 – активирующий фактор транскрипции 4 (activating transcription factor 4); ATF6 – активирующий фактор транскрипции 6 (activating transcription factor 6); BiP – белок, связывающий иммуноглобулин (immunoglobulin binding protein); BMP2 – костный морфогенетический белок 2 (bone morphogenetic protein 2); BSP – костный сиалопротеин (bone sialoprotein); C/EBP α – ССААТ/энхансер-связывающий белок α (ССААТ/enhancer-binding protein α); СНОР – ССААТ/белок, гомологичный энхансер-связывающему белку (ССААТ/enhancer-binding protein homologous protein); eIF2 α – фактор инициации трансляции эукариот 2 α (eukaryotic translation initiation factor 2 α); ERAD – ЭПР-ассоциированная деградация (ER-associated degradation); GRP78 – белок 78 кДа, регулируемый глюкозой (glucose-regulated protein 78); IRE1 – требующий инозитол белок 1 (inositol-requiring protein 1); MEF – эмбриональные фибробласты мыши (murine embryonic fibroblasts); MyoD – белок детерминации миобластов 1 (myoblast determination protein 1); NFATc1 – ядерный фактор активированных Т-клеток, цитоплазматический 1 (nuclear factor of activated T cells cytoplasmic 1); OCN – остеокальцин; Osx – транскрипционный фактор Osterix; 4-РВА – 4-фенилмасляная кислота (4-phenylbutyric acid); PERK – киназа ЭПР, подобная белковой киназе RNA (protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase); PPAR γ – рецептор, активируемый пролифераторами пероксисом γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ); Ppp1cc – каталитическая субъединица протеинфосфатазы 1 γ (protein phosphatase 1 catalytic subunit γ); RANK – рецептор-активатор ядерного фактора NF- κ B (receptor activator of nuclear factor NF- κ B); RANKL – лиганд RANK; Runx2 – фактор транскрипции 2, связанный с доменом runt (runt-related transcription factor 2); sXBP1 – сплайсированный X-box-связывающий белок 1 (spliced X-box-binding protein 1);

ВВЕДЕНИЕ

Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) — это мультифункциональный мембранный компартмент, одной из основных функций которого является котрансляционный перенос секреторных, лизосомных и трансмембранных белков, их модификация и сворачивание [1]. В этих процессах участвует множество разных ферментов и белков-шаперонов ЭПР [2]. Для нормального функционирования белков необходим их безошибочный синтез и сворачивание, поэтому в ЭПР существует контроль качества свёрнутых белков. Неправильно свёрнутые белки узнаются шаперонами (например, BiP (белок, связывающий иммуноглобулин), ERdj (семейство локализованных в ЭПР DnaJ-подобных белков)) и лектинами (например, OS-9 (белок, высокоэкспрессирующийся в остеосаркомах-9) и ХТР3-В (ХТР3-*транс*-активированный ген-В)), ретротранслоцируются из ЭПР в цитозоль, полиубиквитинируются и деградируют в протеосомах [2–4]. Этот процесс называется ЭПР-ассоциированной деградацией (ERAD) [2].

Для нормального функционирования ЭПР необходим баланс между синтезируемыми в ЭПР ещё не свёрнутыми белками и активностью шаперонов ЭПР [1]. Различные физиологические состояния и патологические факторы могут нарушить этот баланс, что приводит к накоплению в ЭПР не свёрнутых и неправильно свёрнутых белков. Это состояние носит название «стресс ЭПР» [5]. Стресс ЭПР может индуцироваться при увеличении количества не свёрнутых белков в ЭПР, например, из-за повышения потребности в белках для секреции в секреторных клетках, или при нарушении процесса сворачивания белков, например, из-за мутаций или воздействия химических агентов (дифтотрептола, туникамицина, тапсигаргина, брэфельдина А и др.) [6–10]. Нарушение кальциевого гомеостаза, окислительно-восстановительного статуса ЭПР, гипоксия, глюкозное голодание, перегруженность ЭПР холестерином, депривация питательных веществ и повышение температуры до 40 градусов также могут приводить к нарушению сворачивания белков и стрессу ЭПР [8–10].

Для восстановления нормального функционирования ЭПР и, в частности, его способности сворачивать белки, в клетках в ответ на

стресс ЭПР активируется сигнальный каскад, известный как ответ на неправильно свёрнутые белки, или UPR [2, 11]. UPR — это адаптивный ответ, изначально нацеленный на нормализацию гомеостаза клетки и её выживание [9, 10]. Активация UPR оказывает влияние почти на каждый аспект секреторного пути в клетке, модифицируя интенсивность синтеза белков и их транслокации в ЭПР, сворачивание белков, созревание и контроль качества свёрнутых белков, перенос белков по секреторному пути и элиминацию неправильно свёрнутых белков с помощью аутофагии и ERAD [11].

UPR может запускаться тремя сенсорными трансмембранными белками ЭПР: IRE1 (требующий инозитол белок 1), PERK (киназа ЭПР, подобная белковой киназе RNA) и ATF6 (активирующий фактор транскрипции 6) [2]. Домены этих белков, находящиеся в просвете ЭПР (люминальные домены), в отсутствие стресса ЭПР связаны с шапероном ЭПР BiP или GRP78 (белок 78 кДа, регулируемый глюкозой), которые за счёт этой связи не дают им активироваться. В условиях стресса ЭПР BiP отсоединяется от сенсоров, что приводит к их активации [9]. Таким образом, IRE1, PERK и ATF6 «отслеживают», справляется ли свёртывающий аппарат ЭПР с имеющимся объёмом белков [2].

Каждый сенсор стресса ЭПР (IRE1, PERK и ATF6) при активации запускает свой сигнальный каскад (путь). Следует отметить, что в зависимости от индуктора стресса ЭПР и клеточного типа могут активироваться не все пути UPR, а два или один из возможных [1].

Если с помощью активации UPR не удаётся восстановить нормальное функционирование ЭПР, то активируются сигнальные пути, запускающие гибель клетки [1, 2]. Таким образом, хронический стресс ЭПР и продолжительный UPR могут приводить к нарушению функционирования клетки и её гибели [1, 12]. Это, в свою очередь, вовлечено в развитие хронических заболеваний у человека, таких как нейродегенеративные заболевания, диабет, фиброз лёгких и воспалительные процессы [12].

Однако гибель или выживание клетки не являются единственными последствиями стресса ЭПР, так как помимо контроля сворачивания белков UPR играет ключевую роль в различных физиологических процессах, таких как врождённый иммунитет, метаболизм

Принятые сокращения (продолжение): TGF- β — трансформирующий фактор роста β (transforming growth factor- β); TUDCA — тауро-урсодезоксихолевая кислота (taurooursodeoxycholic acid); UPR — ответ на неправильно свёрнутые белки (unfolded protein response); XBP1 — X-бокс-связывающий белок 1 (X-box-binding protein 1); α -SMA — гладкомышечный актин α (α -smooth muscle actin).

* Адресат для корреспонденции.

глюкозы и липидов, а также дифференцировка клеток [11]. Физиологический стресс ЭПР участвует в дифференцировке клеток соединительнотканного, мышечного, эпителиального и нейрального происхождения [13–16]. Так, например, физиологический стресс ЭПР, вызванный растительными гормонами, гиббереллиновой и жасмоновой кислотами, индуцирует усиление дифференцировки иммортализованных кератиноцитов линии HaCaT и появление признаков дифференцировки в клетках эпидермоидной карциномы человека A431 [17, 18]. Помимо этого, гиббереллиновая и абсцизовая кислоты вызывают морфологические признаки стресса ЭПР в клетках соединительнотканного происхождения – дермальных фибробластах человека и клетках фибросаркомы человека линии HT1080 [19]. Целью данного обзора является анализ данных, посвящённых участию стресса ЭПР и UPR в дифференцировке клеток мезенхимного происхождения, в частности фибробластов, преадипоцитов, миобластов, остеобластов и остеокластов.

ХАРАКТЕРИСТИКА ПУТЕЙ UPR

UPR может запускаться тремя трансмембранными сенсорами стресса ЭПР – киназами IRE1 и PERK и транскрипционным фактором ATF6, находящимися на мембране ЭПР. В условиях стресса ЭПР от люминальных доменов этих сенсорных белков отсоединяется шаперон BiP, в результате чего сенсоры активируются и каждый запускает свой сигнальный каскад (путь) (рис. 1).

Путь, активируемый IRE1. Трансмембранная киназа IRE1 после освобождения от связи с BiP олигомеризуется и аутофосфорилируется, что ведёт к её активации [10]. Активированная IRE1 с помощью своего эндорибонуклеазного домена осуществляет сплайсинг мРНК, кодирующей транскрипционный фактор XBP1. Этот домен вырезает 26-нуклеотидный интрон и смещает рамку считывания, в результате чего синтезируется активный транскрипционный фактор sXBP1 («s» означает «сплайсированный») [11, 20]. Этот транскрипционный фактор повышает

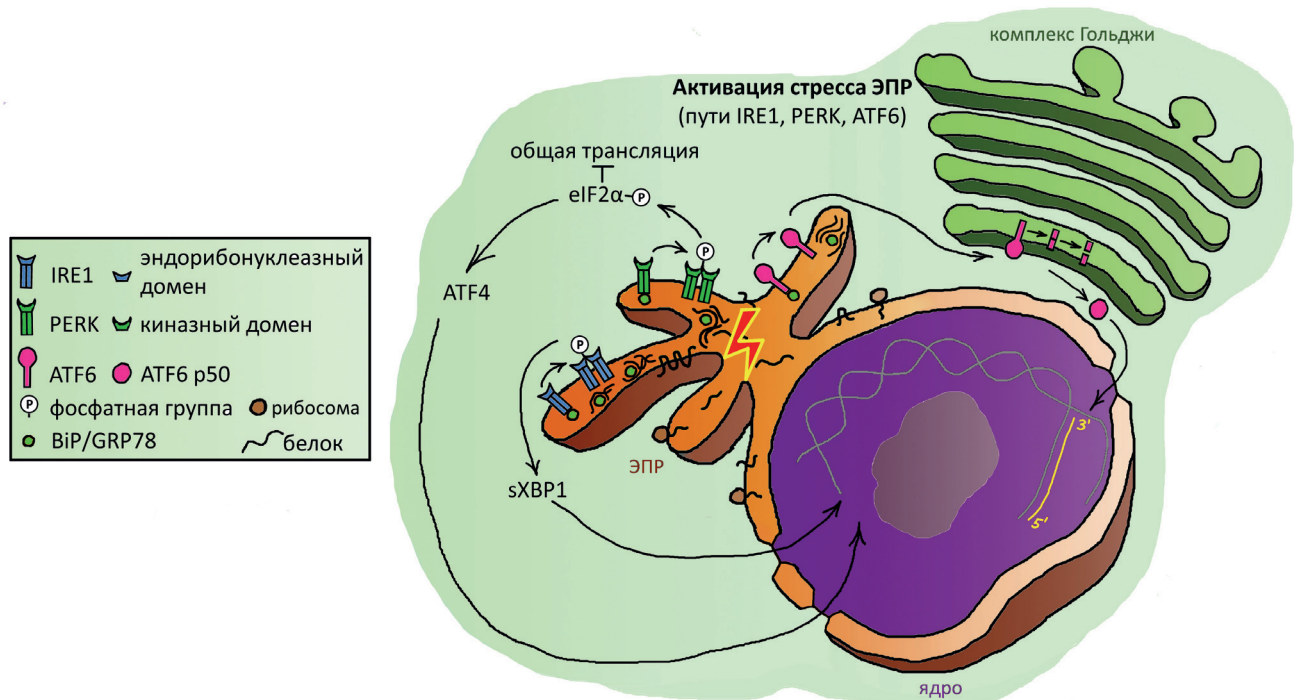


Рис. 1. Ключевые события стресса ЭПР и UPR (ответ на неправильно свёрнутые белки) после отделения BiP/GRP78 (белок, связывающий иммуноглобулин/белок 78 кДа, регулируемый глюкозой) от трёх трансмембранных сенсорных белков ЭПР – IRE1 (требующий инозитол белок 1), PERK (киназа ЭПР, подобная белковой киназе RNA) и ATF6 (активирующий фактор транскрипции 6). IRE1 олигомеризуется и аутофосфорилируется; его эндорибонуклеазный домен осуществляет сплайсинг мРНК XBP1 (X-box-связывающий белок 1), в результате чего синтезируется активный транскрипционный фактор sXBP1. PERK олигомеризуется, аутофосфорилируется и фосфорилирует eIF2α (фактор инициации трансляции эукариот 2α), подавляя общую трансляцию в клетке и усиливая трансляцию ATF4 (активирующий фактор транскрипции 4) – транскрипционного фактора генов-мишеней UPR. ATF6 перемещается в комплекс/аппарат Гольджи и разрезается протеазами. В результате высвобождается цитоплазматический фрагмент (ATF6 p50), который перемещается в ядро, где работает как транскрипционный фактор. Расшифровка графических символов этой части рисунка приведена в зелёном квадрате слева

экспрессию генов белков, вовлечённых в транслокацию синтезируемых белков в ЭПР, их сворачивание (например, дисульфид-изомеразы PDI) и секрецию, а также деградацию неправильно свёрнутых белков (например, EDEM (усиливающий деградацию α -маннидозоподобный белок ЭПР), участвующий в ERAD) и продукцию липидных компонентов ЭПР (например, холин цитидилтрансфераза) [1, 11, 21, 22].

Путь, активируемый PERK. Трансмембранная киназа PERK после освобождения от связи с BiP олигомеризуется, аутофосфорилируется и фосфорилирует Ser51 на α -субъединице инициаторного фактора трансляции eIF2 [10, 23]. Фосфорилированный eIF2 α препятствует инициации трансляции, что ведёт к подавлению трансляции большинства мРНК [23]. В результате в ЭПР перестают поступать синтезируемые белки, что снижает нагрузку на ЭПР, связанную с правильной укладкой белков [2]. При этом мРНК транскрипционного фактора ATF4, наоборот, транслируются в присутствии фосфорилированного eIF2 α [11, 23]. ATF4 активирует транскрипцию генов-мишеней UPR, кодирующих факторы, вовлечённые в биосинтез аминокислот, антиоксидантный ответ, аутофагию и апоптоз [11, 23]. Подавление трансляции с помощью eIF2 α обратимо: ATF4 повышает уровень активности регуляторной субъединицы белковой фосфатазы PP1 – GADD34 (белок, индуцируемый остановкой роста и повреждением ДНК), таким образом участвуя в петле обратной связи, направленной на дефосфорилирование eIF2 α и восстановление нормального уровня синтеза белка [11].

Путь, активируемый ATF6. Трансмембранный белок ATF6 после освобождения от связи с BiP перемещается в составе COPII-окаймлённых везикул от ЭПР к аппарату Гольджи, где он разрезается протеазами S1P и S2P [11, 24]. В результате высвобождается цитоплазматический фрагмент ATF6 – ATF6 p50, который перемещается в ядро и работает как транскрипционный фактор вместе с sXBP1 [11]. ATF6 p50 и sXBP1 активируют транскрипцию генов, кодирующих шапероны и ферменты ЭПР, которые стимулируют транслокацию белков в ЭПР, их сворачивание (например, шапероны GRP78, GRP94, кальнексин), процессинг и секрецию, а также деградацию неправильно свёрнутых белков [1, 11, 25, 26]. Кроме того, ATF6 p50 и sXBP1 стимулируют биогенез ЭПР и аппарата Гольджи в условиях стресса ЭПР [11].

Активация гибели при хроническом стрессе ЭПР. При высоком уровне хронического стресса ЭПР с помощью IRE1 запускается сигнальный путь TNF (фактор некроза опухоли),

рекрутируется медиатор этого сигнального пути – TRAF2 (ассоциированный с рецептором TNF фактор 2) и активируется киназа ASK1 (киназа 1 сигналинга апоптоза). ASK1 активирует киназу JNK (с-Jun N-терминальная белковая киназа), которая участвует в запуске апоптоза, регулируя белки семейства BCL2 (В-клеточная лимфома 2) [1, 10]. Кроме того, ATF4, участвующий в сигнальном пути PERK/eIF2 α , может активировать экспрессию проапоптотического фактора CHOP (ССАТ/белок, гомологичный энхансер-связывающему белку). Этот фактор регулирует белки семейства BCL-2, DR5 (рецептор смерти 5) и GADD34 (регуляторная субъединица белковой фосфатазы PP1) и стимулирует стресс-опосредованную индукцию апоптоза [11].

Таким образом, UPR – это адаптивный ответ, изначально нацеленный на выживание клеток, но запускающий их гибель в случае, если восстановить нормальное функционирование ЭПР не удаётся [1, 2, 9, 10]. Однако, помимо контроля сворачивания белков, UPR играет ключевую роль в физиологических процессах, таких как дифференцировка клеток соединительнотканного, мышечного, эпителиального и нейрального происхождения [11, 13–16]. Данный обзор посвящён роли стресса ЭПР и UPR в дифференцировке клеток мезенхимного происхождения, в частности фибробластов, предипоцитов, миобластов, остеобластов и остеокластов.

UPR И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ФИБРОБЛАСТОВ В МИОФИБРОБЛАСТЫ

Фибробласты – клетки соединительной ткани, синтезирующие и секретирующие компоненты внеклеточного матрикса, такие как коллаген, фибронектин, эластин, гиалуроновая кислота и другие гликозаминогликаны, матриксные металлопротеиназы (MMPs), тканевые ингибиторы металлопротеиназ (TIMPs) и др. [14, 27]. Фибробласты участвуют в построении и ремоделировании внеклеточного матрикса, заживлении ран, воспалении и ангиогенезе [27]. При ранении фибробласты перемещаются в повреждённый участок, где пролиферируют и дифференцируются в миофибробласты [14, 27]. Миофибробласты совмещают в себе признаки фибробластов, например, хорошо выраженный гранулярный ЭПР и аппарат Гольджи, и признаки гладкомышечных клеток – развитый сократительный аппарат, содержащий гладкомышечный актин (α -SMA). В миофибробластах, по сравнению с фибро-

бластами, повышен синтез коллагена I, фибронектина и трансформирующего фактора роста β (TGF- β), увеличено количество фокальных контактов и стресс-фибрилл, повышена контрактильная способность, снижена миграционная активность [14, 28]. Миофибробласты участвуют в заживлении ран, восстанавливая внеклеточный матрикс в качестве каркаса для регенерации ткани, и стягивают края раны за счёт своей контрактильной активности [27].

При нормальном заживлении ран и восстановлении целостности тканей миофибробласты погибают путём апоптоза [14, 28]. Если процессы заживления раны нарушаются, миофибробласты остаются в раневой зоне, где затем развивается фиброз, характеризующийся избыточным отложением внеклеточного матрикса и нерегулируемой контрактильной активностью миофибробластов [28, 29]. Фиброз также может развиваться при хроническом воспалении, вызванном ядовитыми веществами, инфекциями и механическими повреждениями, или как результат аутоиммунных реакций (склеродермии, язвенного колита, болезни Крона и ревматоидного артрита) [29]. Поскольку объём и упругость внеклеточного матрикса играют решающую роль в структурной и функциональной целостности тканей, избыточное количество внеклеточного матрикса при фиброзе приводит к развитию и усугублению дисфункции тканей. Например, идиопатический лёгочный фиброз характеризуется накоплением миофибробластов и ремоделированием внеклеточного матрикса, что приводит к нарушению строения лёгких и прогрессирующему фиброзу [30]. Фиброзу подвержены почти все ткани организма, в том числе печень, почки и сердце [27, 29]. Присутствие миофибробластов отмечено в активно сокращающейся грануляционной ткани и гипертрофических рубцах, а также в сократительных тканях ладонной фасции при болезни Дюпюитрена [14]. В связи с этим изучение механизмов дифференцировки фибробластов в миофибробласты является важным звеном в поиске способов предотвращения и лечения фиброза, а также смягчения его проявлений. Для моделирования фиброза *in vitro* часто используют многофункциональный цитокин TGF- β , который считается основным индуктором дифференцировки фибробластов в миофибробласты [14, 28, 31].

Исследования *in vitro* показали, что стресс ЭПР участвует в дифференцировке фибробластов, выделенных из разных тканей, в миофибробласты [14, 29, 31, 32], а ингибирование стресса ЭПР приводит к подавлению такой дифференцировки [31, 33, 34].

Так, например, при индукции дифференцировки лёгочных фибробластов человека и мыши в миофибробласты с помощью TGF- β значительно повышается уровень синтеза GRP78, sXBP1 и ATF6 [31]. При этом уровень синтеза СНОР и фосфорилированного eIF2 α не изменяется, что, возможно, связано с антиапоптотическим эффектом TGF- β . Напротив, ингибирование стресса ЭПР с помощью химического шаперона, 4-фенилмасляной кислоты (4-PBA), подавляет не только развитие UPR, но и экспрессию генов, кодирующих α -SMA и коллаген I (основных маркёров дифференцировки миофибробластов). Кроме того, индукция синтеза α -SMA и коллагена I с помощью TGF- β подавляется при нокдауне GRP78, что свидетельствует о необходимости участия компонентов UPR в дифференцировке [31]. 4-PBA также оказывает антифибротическое воздействие при TGF- β -индуцированной дифференцировке первичных синовиальных фибробластов крыс в миофибробласты [33]. Стресс ЭПР активируется и при индукции дифференцировки фибробластов в миофибробласты с помощью эндотелина-1 и тромбина [32].

Интересно, что 1%-ный экстракт сигаретного дыма вызывает дифференцировку лёгочных эмбриональных фибробластов человека (MRC-5) в миофибробласты тоже путём индукции стресса ЭПР [35]. При действии данного фактора в фибробластах повышается синтез белков α -SMA, GRP78, IRE1, XBP1 и ATF6. Обработка 4-PBA или нокдаун GRP78 до воздействия снижает индуцированную экстрактом сигаретного дыма дифференцировку фибробластов в миофибробласты. Однако остаётся неизвестным, является ли влияние экстракта сигаретного дыма на дифференцировку фибробластов результатом воздействия одного или нескольких компонентов экстракта или обусловлено совместным действием всех его компонентов [35].

Ингибирование активности отдельных путей UPR показало их важность в активации дифференцировки фибробластов в миофибробласты, однако пока ещё неясно, насколько равнозначно влияние каждого из них [29, 32, 36].

Роль сигнального пути IRE1. Ингибирование IRE1 с помощью селективного ингибитора 4 μ 8C (производное салицилового альдегида, подавляющее РНКазную активность IRE1) блокирует индуцированную TGF- β дифференцировку эмбриональных лёгочных фибробластов человека в миофибробласты, снижая экспрессию и синтез α -SMA и коллагена I [29]. Снижение экспрессии гена, кодирующего α -SMA, наблюдается в эмбриональных лёгоч-

ных фибробластах человека при подавлении РНКазной активности IRE1 и в эмбриональных фибробластах мыши с нокаутом *IRE1*. Кроме того, IRE1 разрезает miRNA-150, что снимает ингибирующий эффект этой микроРНК на экспрессию α -SMA, который miRNA-150 осуществляет через подавление экспрессии транскрипционного фактора c-Myc. По этому механизму осуществляется снижение индуцированной TGF- β экспрессии α -SMA при подавлении РНКазной активности IRE1. При этом sXBP1 стимулирует синтез фосфатидилхолина – основного фосфолипида мембраны ЭПР, что вносит вклад в увеличение площади ЭПР. Это, в свою очередь, необходимо для более эффективного синтеза белков в ходе дифференцировки фибробластов в миофибробласты [29, 37]. Соответственно, при нокдауне *XBP1* увеличение площади ЭПР и секреция коллагена, индуцированные с помощью TGF- β , подавляются [29].

Роль сигнального пути PERK. Нокдаун *PERK* подавляет дифференцировку эмбриональных лёгочных фибробластов человека линии WI-38 в миофибробласты [32]. При индукции дифференцировки с помощью эндотелина-1 или тромбина, но при отсутствии PERK не происходит повышения синтеза α -SMA, коллагена I и коллагена IV. При этом ингибитор киназы JNK также подавляет индуцированную эндотелином-1 или тромбином дифференцировку этих фибробластов в миофибробласты, в частности, в клетках не повышается синтез α -SMA. Это может свидетельствовать о том, что JNK активирует PERK, а PERK, в свою очередь, необходимо для активации синтеза α -SMA.

Роль сигнального пути ATF6. Исследования показали, что ATF6 препятствует дифференцировке фибробластов желудочков сердца в миофибробласты. В частности, подавление активности ATF6 с помощью нокаута или нокдауна приводит к усилению профиброзного эффекта TGF- β [36]. Напротив, дополнительная фармакологическая активация ATF6 с помощью низкомолекулярного активатора *N*-(2-гидрокси-5-метилфенил)-3-фенилпропанамида (compound 147) снижает экспрессию α -SMA и подавляет профиброзное действие TGF- β . Предполагается, что ATF6 подавляет дифференцировку фибробластов в миофибробласты за счёт ингибирования TGF- β -опосредованного сигналинга через посредник Smad и снижения экспрессии генов, кодирующих TGF- β и его рецепторы. В частности, при активации ATF6 с помощью compound 147 активность некоторых профиброзных генов, например генов матриксных металлопротеаз и рецепторов к

TGF- β , снижается, а при нокдауне *ATF6* – повышается [36].

Влияние индукторов стресса ЭПР на дифференцировку фибробластов в миофибробласты. Стресс ЭПР может быть индуцирован химическими агентами, такими как туникамицин и тапсигаргин. Туникамицин – это антибиотик, блокирующий N-гликозилирование белков в ЭПР, что приводит к нарушению начальной стадии биосинтеза гликопротеинов, накоплению несвёрнутых гликопротеинов в ЭПР и стрессу ЭПР [1]. Тапсигаргин – это сесквитерпеновый лактон, который блокирует работу кальциевых АТФаз (SERCA) и приводит к потере активности кальций-зависимых шаперонов, накоплению несвёрнутых белков и стрессу ЭПР. Оказалось, что туникамицин и тапсигаргин способны индуцировать дифференцировку фибробластов в миофибробласты. Так, например, при действии туникамицина или тапсигаргина на первичные лёгочные фибробласты человека наблюдается повышение уровня синтеза α -SMA и коллагена I, а при нокдауне *GRP78* индукция синтеза α -SMA и коллагена I подавляется [31]. Стресс ЭПР, индуцированный тапсигаргином, также повышает экспрессию генов, кодирующих коллаген I и α -SMA, в синовиальных фибробластах крыс [33]. Постоянная активация стресса ЭПР с помощью туникамицина в первичных фибробластах кожи мыши индуцирует дифференцировку этих клеток в миофибробласты. В клетках повышается экспрессия α -SMA и контрактильная активность, они приобретают более распластанную форму [14]. Туникамицин и тапсигаргин также повышают синтез α -SMA и коллагена IV и стимулируют дифференцировку эмбриональных лёгочных фибробластов человека линии WI-38 в миофибробласты [32]. При этом нокдаун гена *PERK* или ингибирование PERK с помощью ингибитора GSK2606414 подавляет индуцированный тапсигаргином синтез α -SMA и коллагена IV.

Таким образом, сигнальные пути активации стресса ЭПР могут оказывать разнонаправленное действие на дифференцировку фибробластов в миофибробласты: если необходимо стимулировать дифференцировку, следует активировать IRE1- и PERK-зависимые механизмы индукции стресса ЭПР; если же необходимо подавить признаки дифференцировки, то следует воздействовать на сигнальный путь ATF6.

UPR И АДИПОГЕНЕЗ

Адиipoциты являются основным компонентом жировой ткани. Их функция состоит в кон-

троле энергетического баланса путём хранения триацилглицерина в периоды избытка энергии и его мобилизация во время недостатка энергии [38]. Адипоциты являются метаболически активными клетками, способными синтезировать и секретировать различные белки, включая гормоны (например, лептин и адипонектин) и цитокины [39]. Адипоциты дифференцируются из преадипоцитов [38], и ключевую роль в дифференцировке адипоцитов (адипогенезе) играют транскрипционные факторы С/ЕВР β и С/ЕВР δ (ССААТ/энхансер-связывающие белки β и δ), которые активируются очень рано и запускают экспрессию рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом PPAR γ и ССААТ/энхансер-связывающего белка α (С/ЕВР α). PPAR γ и С/ЕВР α – два ключевых адипогенных фактора, которые позитивно регулируют друг друга для стимулирования и поддержания дифференцировочного статуса [40]. Следует отметить, что в ходе адипогенеза преадипоциты претерпевают значительные морфологические изменения. Так, например, они меняют свою форму с фибробластоподобной на кубическую, в них появляется большое количество липидных капель [39–41].

При исследовании адипогенеза *in vitro* активацию дифференцировки проводят с помощью специального дифференцировочного коктейля, содержащего инсулин, изобутилметилксантин, дексаметазон и троглитазон. В качестве преадипоцитов обычно используют клетки линии 3T3-L1 или эмбриональные фибробласты мыши (MEF) [39, 40, 42–47].

Как оказалось, дифференцировка адипоцитов *in vitro* и *in vivo* сопровождается активацией стресса ЭПР [39, 45–47], причём в системе *in vitro* уровень синтеза фосфорилированного eIF2 α и sXBP1 повышается на ранней стадии дифференцировки и затем постепенно снижается, а уровень синтеза СНОР, наоборот, снижается на ранней стадии дифференцировки и затем повышается на более поздних стадиях [39, 45, 46]. Ингибирование стресса ЭПР *in vitro* с помощью химических шаперонов 4-РВА или тауро-урсодезоксихолевой кислоты (TUDCA) подавляет адипогенез. Это выражается в том, что уменьшается количество липидных капель и не происходит изменение формы клеток, а при действии 4-РВА также снижается секреция адипонектина. При этом импульсное добавление 4-РВА блокирует накопление липидов на всех стадиях дифференцировки, от ранней (0–2 дни) до поздней (6–10 дни), что свидетельствует о важности UPR для адипогенеза на всех его стадиях. Тем не менее наиболее значительное подавление накопления липидов

при завершении дифференцировки наблюдается при добавлении 4-РВА на более поздних стадиях адипогенеза. В экспериментах *in vivo* добавление 4-РВА в питьевую воду самкам мышей C57BL/6 вызывает замедление увеличения веса и снижение массы жировых прослоек, а также уменьшает размер адипоцитов. Кроме того, 4-РВА снижает уровень синтеза GRP78 в жировой ткани. Такой эффект 4-РВА *in vivo*, по-видимому, связан с тем, что 4-РВА подавляет рекрутирование и дифференцировку преадипоцитов и препятствует гипертрофии имеющихся адипоцитов [39].

Ингибирование адипогенеза при подавлении стресса ЭПР было также обнаружено при воздействии нетепловой атмосферной плазмы (ионизированный газ), клиническое применение которой изучают в последние десятилетия. Полученный авторами исследования раствор плазмы, воздействуя в течение 4 дней, подавлял адипогенную дифференцировку клеток линии 3T3-L1, параллельно ингибируя стресс ЭПР и активацию UPR в ходе адипогенеза [47].

Исследования показали, что для успешного прохождения адипогенеза необходимы все три пути активации UPR [40, 43, 44, 48].

Роль сигнального пути IRE1. Было показано, что ключевой ранний адипогенный фактор С/ЕВР β напрямую связывается с промотором гена, кодирующего XBP1, и индуцирует его экспрессию. Затем sXBP1 связывается с промотором другого критически важного для адипогенеза транскрипционного фактора – С/ЕВР α – и индуцирует его экспрессию. Нокдаун XBP1 или IRE1 в клетках MEF или 3T3-L1 приводит к глубоким нарушениям адипогенеза, в частности, в клетках почти не формируются липидные капли. В ходе адипогенеза в клетках 3T3-L1 не происходит гиперфосфорилирования IRE1, хотя оно происходит при индукции UPR с помощью тапсигаргина. Интересно, что индукция ожирения у мышей вызывает появление гиперфосфорилированного IRE1. Возможно, это связано с тем, что физиологический UPR активируется в ходе раннего адипогенеза и затем поддерживается на относительно низком уровне в зрелых адипоцитах, а последующее ожирение ассоциировано с повышением уровня UPR [40].

Однако, по данным других исследователей, активация или делеция IRE1 не изменяла дифференцировку в клетках 3T3-L1 [45], что противоречит результатам, описанным выше [40].

Роль сигнального пути PERK. Как оказалось, PERK-опосредованный механизм индукции стресса ЭПР тоже участвует в регуляции липогенной программы в ходе адипогенеза.

Так, например, при отсутствии PERK ингибируется повышение экспрессии липогенных ферментов SREBP-1c (белок, связывающийся с регуляторным элементом стерола-1c), FAS (синтаза жирных кислот) и SCD1 (стеарил-КоА-дегидрогеназа-1), подавляется накопление липидных капель. При этом PERK в ходе стимулирования дифференцировки адипоцитов проявляет активность липидной киназы по отношению к диацилглицеролу [44, 49]. Однако уровень синтеза мишени PERK – белка SNOB – снижается на ранней стадии дифференцировки и затем повышается на более поздних стадиях. Это свидетельствует о необходимости снижения активности PERK на ранней стадии дифференцировки адипоцитов [39, 45, 46]. При этом стимуляция фосфорилирования eIF2 α при отсутствии стресса ЭПР снижает эффективность адипогенеза в клетках 3T3-L1, а подавление фосфорилирования eIF2 α , напротив, стимулирует адипогенез *in vitro* и *in vivo* [45]. Стимулированная продукция SNOB при отсутствии стресса ЭПР также ингибирует адипогенез в клетках 3T3-L1 [41, 45]. Такое ингибирующее влияние SNOB на адипогенез, возможно, связано со способностью SNOB образовывать гетеродимер с C/EBP α и β и препятствовать связыванию образовавшегося гетеродимера с классическими сайтами связывания для C/EBP [41, 50]. То есть SNOB в этой системе функционирует как негативный регулятор адипогенеза [39, 41]. Поэтому, возможно, снижение экспрессии SNOB на ранней стадии дифференцировки, показанное многими авторами, связано с тем, что такое снижение необходимо для работы адипогенных генов семейства C/EBP, активности которых SNOB препятствует.

Роль сигнального пути ATF6. Сенсор стресса ЭПР, ATF6, также важен для нормального адипогенеза. Нокдаун *ATF6* в мезенхимных стромальных клетках линии C3H10T1/2 приводит к подавлению накопления липидов, значительному снижению экспрессии *PPAR γ* , липогенного транскрипционного фактора SREBP-1c, чувствительного к инсулину переносчика глюкозы GLUT4 и связывающегося с жирными кислотами белка aP2. При этом разница в экспрессии *PPAR γ* в клетках с нокдауном *ATF6* и контрольных клетках по мере прохождения этапов адипогенеза становится всё более значительной. Кроме того, в клетках с нокдауном *ATF6* менее выражена стимуляция экспрессии раннего транскрипционного фактора адипогенеза C/EBP β [48].

Следует отметить, что в ряде работ присутствуют данные об ингибирующем влиянии

стресса ЭПР на дифференцировку адипоцитов [41, 42, 45, 51]. Так, например, соединение K-7174 (синтетический низкомолекулярный ингибитор транскрипционных факторов GATA, который участвует в поддержании преадипоцитов в недифференцированном состоянии), а также индукторы стресса ЭПР – туникамицин, A23187 и тапсигаргин, ингибировали адипогенез клеток линии 3T3-L1 [42, 45]. Кроме того, туникамицин и тапсигаргин подавляли дифференцировку бежевых адипоцитов, развитие которых повышает термогенез путём рассеивания избыточной химической энергии через опосредованное разобщающим белком 1 (UCP1) формирование тепла и помогает снизить ожирение [51]. Снижение уровня стресса ЭПР химическими шаперонами TUDCA или 4-PBA стимулировало дифференцировку бежевых адипоцитов. У мышей с ожирением, получавших TUDCA, наблюдалось побурение (browning) белого жира, возможно, вызванное *транс*-дифференцировкой белых адипоцитов в бежевые, и значительно замедлилось увеличение веса [51].

По-видимому, противоречие в данных о роли стресса ЭПР в адипогенезе связано с тем, что разный уровень стресса ЭПР может по-разному влиять на адипогенез. Запуск стресса ЭПР выше физиологического уровня вызывает сильный UPR, который не позволяет клеткам уйти в дифференцировку, так как ресурсы таких клеток направлены на выживание. В связи с этим ряд исследователей предлагает выделять две формы UPR – острую форму, также называемую «патологической», и хроническую форму, которую они называют «физиологической» [39, 40, 45, 46]. Острая/патологическая форма UPR возникает в ответ на неблагоприятные условия, такие как гипоксия, гипергликемия, вирусная инфекция или окислительный и механический стресс из-за гипертрофии адипоцитов в жировой ткани при ожирении. Эта форма стресса ЭПР может отрицательно влиять на функцию жировой ткани и способствовать развитию диабета 2-го типа, резистентности к инсулину и лептину и липотоксичности. Напротив, хронический/физиологический тип активации UPR характерен для таких клеточных процессов, как дифференцировка и, по-видимому, является адаптивным механизмом, направленным на стимуляцию выживания клеток и эффективное функционирование ЭПР. Непосредственно в адипоцитах активация UPR, по-видимому, настраивает клетку на повышенную нагрузку в ЭПР [39].

Подтверждение предположения о двух формах UPR было получено в работе

Longo et al. [46], показавших, что стресс ЭПР и UPR «физиологически» активируются в ходе адипогенеза клеток 3T3-L1, а «патологическая» часть стресса ЭПР, вызванная глюкозотоксическим воздействием глюкозамина, ингибирует их дифференцировку. Индукция дифференцировки преадипоцитов в присутствии тапсигаргина вызвала значительно более высокую активацию UPR, чем при физиологически индуцированном адипогенезе. Такая гиперактивация UPR сопровождалась снижением экспрессии генов-маркёров адипоцитов (*C/EBP α* , *PPAR γ 2*, *FABP4/AP2*) и ингибированием адипогенеза. Сходным эффектом обладал и другой индуктор стресса ЭПР – глюкозамин, способный активировать гексозаминовый биосинтетический путь, вовлечённый во многие отрицательные эффекты гипергликемии. Интересно, что добавление химического шаперона 4-PBA в концентрации 50 мкМ вместе с глюкозамином в дифференцировочную среду не ингибировало «физиологическое» повышение экспрессии *GRP78* и *CHOP* при дифференцировке адипоцитов, но снимало ингибирующий эффект глюкозамина на адипогенез [46]. При этом ранее было показано, что 10–20 мМ 4-PBA ингибирует дифференцировку адипоцитов [39]. Как полагают Longo et al. [46], такое различие связано с тем, что в высокой концентрации 4-PBA полностью подавляет «физиологический» стресс ЭПР, необходимый для нормальной дифференцировки адипоцитов, в частности, для адаптации ЭПР к повышенному синтезу белка в ходе дифференцировки. В низкой концентрации этот химический шаперон ингибирует только «патологический» стресс ЭПР.

Таким образом, IRE1-, PERK- и ATF6-зависимые пути активации стресса ЭПР стимулируют адипогенез. Поэтому, например, для подавления адипогенеза и смягчения развития ожирения необходимо ингибировать все три пути.

UPR И МИОГЕНЕЗ

Миобласты представляют собой клетки-предшественники мышечных волокон. В ходе ранней фазы эмбрионального развития миобласты, образовавшиеся из коммитированных предшественников, сливаются и формируют многоядерные миотубулы, а затем миотубулы дифференцируются в мышечные волокна [52]. Не ушедшие в дифференцировку коммитированные предшественники миобластов переходят в состояние покоя. На поздней стадии эмбриогенеза и в постнатальном развитии эти клетки остаются между базальной мембраной,

которая окружает мышечные волокна [53], и плазматической мембраной мышечных волокон (сарколеммой). Они представляют собой популяцию сателлитных клеток (миосателлитов) – стволовых клеток мышечной ткани [52, 54]. Миогенез в постнатальном периоде возобновляется в ходе регенерации ткани после повреждения мышечных волокон [55]. При этом сателлитные клетки активируются, пролиферируют и либо сливаются с мышечными волокнами, либо образуют новые мышечные волокна [56]. В активации дифференцировки миобластов и поддержании их пролиферативной активности участвуют белок детерминации миобластов 1 (MyoD) и миогенный фактор 5 (Myf5) [55]. После индукции дифференцировки миобласты перестают пролиферировать, и в них активируется экспрессия генов, кодирующих миогенин и специфичный для миоцитов энхансерный фактор 2с (Mef2c), что приводит к слиянию миобластов (миоцитов) и их терминальной дифференцировке. Миогенез сопровождается увеличением площади и объёма ЭПР, о чём свидетельствует хорошо развитая сеть ЭПР в миотубулах [52].

Известно, что первичные миобласты при индукции миогенеза *in vitro* могут дифференцироваться в миотубулы [54]. Оказалось, что физиологический стресс ЭПР стимулирует миогенез, причём для дифференцировки миобластов необходимы все три пути активации UPR [15, 52, 55, 57]. Кроме того, показано, что в ходе дифференцировки миобластов транскрипционный фактор TEAD4 (транскрипционно усиленный ассоциативный домен 4), экспрессирующийся в развивающейся скелетной мускулатуре эмбрионов мыши и необходимый для нормальной дифференцировки миобластов C2C12, также регулирует экспрессию генов UPR [57]. В частности, при нокдауне *TEAD4* снижается экспрессия генов шаперонов ЭПР, генов белков ERAD, *ATF6*, *ATF4* и *CHOP*, а также подавляется экспрессия и сплайсинг XBP1, причём экспрессия *CHOP* напрямую регулируется TEAD4.

В ходе дифференцировки миобластов происходит временное снижение концентрации кальция в ЭПР, необходимое для миогенеза [15, 55]. Блокирование освобождения кальция из ЭПР подавляет UPR в ходе миогенеза и ингибирует сам миогенез. Кроме того, снижение концентрации кальция в ЭПР в дифференцирующихся миобластах *in vitro* и *in vivo* приводит к образованию особых структур, выявляемых с помощью ЭПР-трекера. Эти структуры имеют размер 1–4 мкм и представляют собой цистерны гранулярного ЭПР, свёрнутые в концентрические кольца. Одна структура содержит 4–10

свёрнутых в кольцо цистерн ЭПР, расположенных почти на одинаковом расстоянии друг от друга. Они появляются в миобластах на третий день дифференцировки, а исчезают уже после слияния миобластов [15]. Сходные структуры, но со свободным пространством в центре (иногда заполненным органеллами), наблюдаются в пролиферирующих миобластах при индукции стресса ЭПР с помощью ингибиторов кальциевых АТФаз – тапсигаргина и циклопиазоновой кислоты. Напротив, туникамицин, не влияющий на концентрацию кальция в ЭПР, не вызывает формирование таких структур [15]. Однако физиологическое значение таких конформационных изменений ЭПР остаётся неизвестным.

Роль сигнального пути IRE1. IRE1/XBP1 играет важную роль в поддержании выживаемости клеток и экспрессии генов, связанных с дифференцировкой миобластов [55]. В миобластах линии C2C12 нокдаун *IRE1* и *XBP1* подавляет формирование миотубул, экспрессию генов миогенеза – *Mef2c*, *MyoD* и гена, кодирующего миогенин [52, 55]. Следует отметить, что ген *XBP1* является прямой мишенью миогенина и *MyoD* [58]. В популяции клеток с нокдауном *XBP1* повышается частота апоптозов, что подчёркивает участие пути IRE1/XBP1 в поддержании выживания клеток путём стимуляции дифференцировки [55]. Более того, sXBP1, связываясь с промотором гена *CDK5*, участвует в регуляции экспрессии циклин-зависимой киназы 5 (*CDK5*), которая необходима для миогенеза. Было сделано предположение, что sXBP1 регулирует экспрессию генов миогенеза путём индукции экспрессии *CDK5* [55]. При этом гиперэкспрессия sXBP1 подавляет миогенез, активируя репрессор *MyoD* – *Mist1* [59]. В таких миобластах подавляется экспрессия маркёров миогенеза и нарушается формирование миотубул. Это может быть связано с тем, что гиперэкспрессия sXBP1 «имитирует» повышенный уровень стресса ЭПР, в связи с чем для восстановления гомеостаза срабатывает механизм ингибирования дифференцировки, то есть срабатывает «точка контроля стресса ЭПР» [55, 59].

Следует отметить, что нокаут *XBP1* не оказывает влияния на регенеративный миогенез с участием клеток-сателлитов у взрослых мышей [56]. Нокаут *XBP1* не влияет на формирование миотубул и мышечных волокон и на экспрессию маркёров миогенеза. Это может свидетельствовать о том, что разные миогенные факторы вносят вклад в эмбриональный миогенез и миогенез с участием клеток-сателлитов при регенерации во взрослом организме [55, 56]. Возможно, sXBP1 не оказывает влияния на регенеративный миогенез или

отсутствие этого транскрипционного фактора компенсируется другими факторами [55].

Роль сигнального пути PERK. PERK-опосредованный механизм контролирует раннюю дифференцировку миобластов *in vitro* за счёт регуляции экспрессии микроРНК, необходимых для миогенеза [52]. Нокдаун *PERK* в мышечных скелетных миобластах линии C2C12 подавляет образование миотубул, приводит к изменению морфологии миобластов, снижает экспрессию и синтез *MyoD*. При этом фармакологическое ингибирование *PERK* с помощью ингибитора фосфорилирования *PERK* GSK2606414 также приводит к подавлению синтеза *MyoD*. Более того, нокдаун *PERK* изменяет экспрессию микроРНК, связанных с поддержанием дифференцировки и стволовых свойств клеток. При нокдауне *PERK* экспрессия многих микроРНК, стимулирующих миогенез (например, miR-128), снижается, а экспрессия микроРНК, поддерживающих стволовые свойства клеток, повышается. Помимо этого, повышается активность сигнальных путей, ассоциированных со стволовыми свойствами клеток, таких как *Nanog*, *Myc* и *Oct4*, а также повышается экспрессия маркёра миосателлитов *PAX7* [52].

Более того, сигнальный путь *PERK*/ATF4 активирует микроРНК, ассоциированные с миогенезом на ранней стадии дифференцировки миобластов [52]. ATF4 связывается с промоторными участками и стимулирует экспрессию некоторых микроРНК, ассоциированных с дифференцировкой. При гиперэкспрессии ATF4 даже без стимула к дифференцировке миобласты сливаются в миотубулы, и в них повышается уровень синтеза *MyoD*.

Ключевой регулятор сигнального пути UPR – каталитическая субъединица протеинфосфатазы 1 γ (*Ppp1cc*), ген которой является целевым для микроРНК miR-128, которую, в свою очередь, контролирует сигнальный путь *PERK* [52]. miRNA-128 подавляет ингибитор миогенеза *Ppp1cc*, а репрессия *Ppp1cc* имеет решающее значение для петли обратной связи, которая регулирует активность сигнальных путей, связанных с UPR. Кроме этого, подавление активности *Ppp1cc* приводит к увеличению площади ЭПР, миграции клеток, их слиянию и образованию миотубул. При этом РНК-связывающий белок ARPP21 (регулируемый циклическими АМФ фосфопротеин 21) противодействует активности miR-128, конкурируя с ней за связывание с 3'-нетранслируемой областью гена, кодирующего *Ppp1cc*. В ходе позднего миогенеза ARPP21 негативно регулирует miR-128, подавляя её блокирующее воздействие на *Ppp1cc*, и таким образом, препятствуя постоянной активности UPR [52].

Помимо эмбрионального миогенеза, сигнальный путь PERK регулирует регенерацию скелетных мышц, опосредованную сателлитными клетками [56]. При нокауте *PERK in vivo* нарушается регенерация мышц, что выражается в подавлении формирования миотубул и мышечных волокон, снижении экспрессии и синтеза маркёров миогенеза *MyoD* и миогенина. Фармакологическое ингибирование PERK с помощью GSK2606414 в сателлитных клетках *in vitro* также приводит к подавлению формирования миотубул [56].

Следует отметить, что *СНОР*, напротив, подавляет транскрипцию *MyoD* и задерживает дифференцировку миобластов *in vitro* [60]. Экспрессия *СНОР* наблюдается в субпопуляции миобластов, которые при инкубации с дифференцировочной средой не уходят в дифференцировку. При нокауте *СНОР* наблюдается более ранняя и более выраженная дифференцировка, в миотубулах увеличивается количество ядер, в то время как постоянная экспрессия *СНОР* задерживает дифференцировку и уменьшает количество ядер в миотубулах. Показано, что *СНОР* связывается с регуляторными участками гена *MyoD* и снижает ацетилирование гистонов в этих участках. Таким образом, активность *СНОР*, по-видимому, препятствует преждевременной дифференцировке миобластов [60].

Роль сигнального пути ATF6. Проведённые исследования показали, что нокаут *ATF6* в мышечных скелетных миобластах линии C2C12 подавляет образование миотубул, экспрессию и синтез *MyoD* [52, 61]. Однако при регенеративном миогенезе с участием сателлитных клеток уровень экспрессии *ATF6* не изменяется [56]. По-видимому, роли разных сигнальных путей UPR в эмбриональном миогенезе и постнатальном регенеративном миогенезе различаются, однако для получения более детальной информации необходимы дополнительные исследования.

Влияние индукторов стресса ЭПР на миогенез. Индукторы стресса ЭПР, туникамицин и тапсигаргин, селективно элиминируют не способные дифференцироваться миобласты линии C2C12, позволяя выжившим клеткам более эффективно дифференцироваться в миотубулы [62, 63]. В частности, инкубация миобластов с туникамицином или тапсигаргином перед индукцией дифференцировки приводит к увеличению количества ядер в миотубулах и увеличению размера самих миотубул [62]. Такие миотубулы формируют саркомеры и способны сокращаться, что редко наблюдается в системе *in vitro* [62]. Инкубация миобластов с

тапсигаргином перед индукцией дифференцировки также повышает экспрессию генов, кодирующих *MyoD* и миогенин [63]. Более того, мягкий стресс ЭПР, индуцируемый тапсигаргином, устраняет подавление слияния миобластов линии C2C12, вызываемое гиперэкспрессией деубиквитирующего фермента USP19 [64].

Таким образом, все три пути активации UPR необходимы для нормального прохождения эмбрионального миогенеза, однако только сигнальный путь PERK стимулирует регенеративный миогенез.

UPR И ОСТЕОБЛАСТОГЕНЕЗ

Остеобласты — это клетки, синтезирующие и образующие внеклеточный матрикс, и таким образом участвующие в формировании костной ткани [65, 66]. Они дифференцируются из преостеобластов, которые, в свою очередь, дифференцируются из мезенхимных стромальных (стволовых) клеток при активации мастер-регулятора остеогенеза *Runx2* (фактор транскрипции 2, связанный с доменом runt) [66]. Мишенями *Runx2* являются остеопонтин, остеокальцин (OCN) и костный сиалопротеин (BSP). Преостеобласты (незрелые остеобласты) дифференцируются в зрелые остеобласты в ходе трёх этапов: 1) преостеобласты продолжают пролиферировать и экспрессируют маркёры коллаген I, остеопонтин и др., 2) преостеобласты выходят из клеточного цикла и начинают дифференцироваться в остеобласты, экспрессируя маркёры коллаген I и активную щелочную фосфатазу, 3) незрелые остеобласты минерализуют матрикс и экспрессируют маркёр OCN [66]. Таким образом, когда незрелые остеобласты дифференцируются в зрелые, они продуцируют множество белков, в первую очередь коллаген I и OCN [67–69]. Для дифференцировки остеобластов необходимо множество факторов, среди которых ключевыми являются *Osx* (*Osterix*) и *BMP2* (костный морфогенетический белок 2) [66, 68]. Интересно, что *BMP2* стимулирует остеогенез путём активации мягкого стресса ЭПР с участием *IRE1*, *PERK* и *ATF6* [68, 70–72].

Роль сигнального пути IRE1. Роль пути *IRE1/XBP1* в дифференцировке остеобластов в настоящее время однозначно не определена. По данным одной группы исследователей, путь *IRE1/XBP1* стимулирует дифференцировку остеобластов, причём транскрипционный фактор *Osx*, необходимый для формирования костей, является мишенью *sXBP1* [73]. Так, например, при стимулировании остеогенной

дифференцировки с помощью BMP2 в фибробластах мыши MEF значительно повышается синтез sXBP1 и экспрессия *Osx*, синтез коллагена I и OCN, активность щелочной фосфатазы. В то же время при нокауте *IRE1* индукция дифференцировки с помощью BMP2 не вызывала повышения активности щелочной фосфатазы, был снижен уровень BSP, коллагена I и OCN, то есть при отсутствии *IRE1* дифференцировка остеобластов ингибировалась [73].

Противоположные результаты были получены другой группой исследователей, которые показали, что нокаунт *IRE1* стимулирует индуцированную BMP2 дифференцировку мезенхимных стволовых клеток линии C2C12 в остеобласты, а гиперэкспрессия *IRE1* ингибирует дифференцировку [74]. Противоречие в полученных данных можно объяснить тем, что в качестве модели остеогенеза были использованы разные клеточные линии, а также неполным подавлением экспрессии *IRE1* при его нокауне.

Роль сигнального пути PERK. В отличие от сигнального пути *IRE1* необходимость активности PERK для дифференцировки остеобластов не вызывает сомнений [67, 68, 75]. Мыши с нокаутом *PERK* имеют тяжёлую неонатальную остеопению, которая проявляется в уменьшении толщины кортикальной части кости и степени минерализации, а также в снижении объёма и толщины костных балок [67, 68]. Такая остеопения вызвана недостаточным количеством зрелых остеобластов, нарушенной дифференцировкой остеобластов и нарушением секреции проколлагена I. При нокауте *PERK* у мышей и в первичных остеобластах мышей снижается экспрессия генов, кодирующих маркёры зрелых остеобластов – щелочную фосфатазу, коллаген I, OCN и BSP, задерживается формирование минерализованных отложений, подавлена экспрессия *Runx2* и *Osx* [67, 68]. Напротив, при введении в первичные остеобласты мышей *PERK*^{-/-} вектора с *ATF4* активность щелочной фосфатазы и формирование минерализованных отложений возвращается к нормальному уровню [68].

Активность PERK необходима для активации критического регулятора дифференцировки остеобластов – ATF4 [68, 75], который является транскрипционным фактором, необходимым для дифференцировки и экспрессии специфических генов остеобластов [75]. Кроме того, ATF4 участвует в посттранскрипционной регуляции синтеза коллагена I. У мышей с нокаутом *ATF4* развивается тяжёлая остеопения. В частности, задерживается формирование костей и минерализация в эмбриональный период, и снижается количество и толщина кост-

ных балок в ходе постнатального развития [75]. Мишенями ATF4 являются маркёры дифференцировки остеобластов OCN и BSP [68, 75]. ATF4 активирует OCN, формируя на промоторе *OCN* комплекс с *Runx2* [68, 76]. Следует отметить, что *Runx2* нужен для экспрессии самого ATF4, так как при отсутствии экспрессии *Runx2* экспрессия *ATF4* подавлена [75].

ATF4 является транскрипционным активатором не только для OCN, но и для гена транскрипционного фактора остеогенеза *Osx* [77]. ATF4 повышает экспрессию *Osx*, связываясь с его промотором. Нокаут *ATF4* приводит к значительному снижению уровня синтеза *Osx*, хотя уровень *Runx2*, необходимый для экспрессии *Osx*, не изменяется.

Интересно, что паратиреоидный гормон (ПТГ), используемый в клинике в качестве лекарственного препарата для лечения возрастного остеопороза, воздействует на сигнальный путь PERK и стимулирует формирование костей [69, 77]. ПТГ активирует PERK в преостеобластах линии MC3T3-E1 и в первичных остеобластах голени и стимулирует активацию генов-маркёров дифференцировки остеобластов, таких как *Runx2*, *OCN* и гены, кодирующие щелочную фосфатазу и коллаген I [69]. Подавление активности PERK или ATF4 с помощью ингибиторов или нокауна подавляет экспрессию генов-маркёров дифференцировки остеобластов, активность щелочной фосфатазы, минерализацию матрикса и секрецию OCN в этих клетках. Напротив, салубринал, поддерживающий фосфорилирование eIF2 α , усиливает дифференцировку остеобластов, индуцированную с помощью ПТГ. Кроме того, было показано, что ПТГ усиливает взаимодействие между шапероном HSP90 (белок теплового шока 90) и PERK, а ингибирование HSP90 снижает синтез PERK и ингибирует дифференцировку остеобластов при воздействии ПТГ. Таким образом, HSP90 также необходим для дифференцировки остеобластов, так как он усиливает стабильность PERK [69]. Участие сигнального пути PERK в активации остеогенеза с помощью ПТГ было подтверждено в экспериментах *in vivo*. У мышей с нокаутом *ATF4* ПТГ не индуцировал или слабо индуцировал экспрессию маркёров дифференцировки остеобластов [77].

Следует отметить, что путь PERK стимулирует остеогенную дифференцировку не только остеобластов, но и других клеток мезенхимного происхождения. При индукции остеогенной дифференцировки стандартной дифференцировочной средой (питательная среда α -MEM с добавлением 10% FBS, 100 мкМ L-аскор-

бат-2-фосфата, 10 мМ β-глицерофосфата и 10 нМ дексаметазона) стволовые клетки периодонтальной связки человека (плотная соединительная ткань вокруг корня и альвеолярной кости зуба) дифференцируются в остеобластоподобные клетки, в них повышается экспрессия генов-маркёров остеогенной дифференцировки [78]. Гиперэкспрессия *PERK* ещё больше повышает уровень экспрессии генов-маркёров остеогенной дифференцировки и активность щелочной фосфатазы, а подавление *PERK*, напротив, ингибирует дифференцировку.

Кроме того, *ATF4* играет ключевую роль в индукции дифференцировки мезенхимных стволовых клеток костного мозга в остеобласты, в том числе стимулируя синтез β-катенина, который необходим для дифференцировки в остеобласты [79]. Подавление экспрессии гена, кодирующего *ATF4*, ингибировало дифференцировку в остеобласты. Нокдаун *ATF4* снижал уровень синтеза β-катенина, но не экспрессии гена, кодирующего β-катенин, что свидетельствует о преимущественно посттранскрипционной регуляции уровня β-катенина. Помимо этого, *ATF4* индуцирует признаки остеогенной дифференцировки в фибробластах *N1H3T3*, миобластах *C2C12* и лимфоцитах *S194* [65].

Роль сигнального пути *ATF6*. Исследования показали, что в остеогенезе, индуцируемом фактором дифференцировки *BMP2*, участвует и *ATF6* [71]. *BMP2* стимулирует экспрессию и активацию *ATF6* в клетках линии *MC3T3-E1*, усиливая связывание *Runx2* с промотором гена *ATF6*. При нокауте *Runx2* *BMP2* не способен активировать *ATF6*. В свою очередь, гиперэкспрессия *ATF6* повышает активность промотора гена *OCN*, а ингибирование активности *ATF6* блокирует индукцию экспрессии *OCN*. По-видимому, *BMP2* индуцирует дифференцировку остеобластов через *Runx2*-зависимую экспрессию *ATF6*, который напрямую регулирует транскрипцию *OCN* [71]. Интересно, что гомолог *ATF6* – *OASIS* (вещество, специфически индуцируемое старыми остеобластами), экспрессирующийся в костях, не влияет на экспрессию *OCN*, однако является транскрипционным активатором гена, кодирующего коллаген I, и имеет сайт связывания на его промоторе [70]. У мышей, нокаутных по *OASIS*, наблюдается сильная остеопения из-за задержки дифференцировки остеобластов, характеризующаяся в том числе снижением отложения коллагена I.

Влияние индукторов стресса ЭПР на остеогенез. При запуске физиологического стресса ЭПР индукторы стресса ЭПР могут стимулировать остеогенез [80, 81]. Так, например,

в первичных остеобластах мыши и мезенхимных стволовых клетках костного мозга крысы тапсигаргин повышает уровни синтеза *OCN* и *BSP*, а при нокауте *PERK* в первичных остеобластах и при нокауте *PERK* в мезенхимных стволовых клетках костного мозга крысы данный эффект не наблюдается [68, 81].

При этом повышенный (патологический) стресс ЭПР подавляет остеогенез и индуцирует апоптоз [80–82]. Так, тапсигаргин стимулирует остеогенез в линии стромальных клеток костного мозга мыши *ST2* [82]. Однако следует отметить, что использование более высокой дозы тапсигаргина подавляет остеогенез [81].

Таким образом, все три пути активации *UPR* стимулируют остеогенез, что может быть использовано для улучшения восстановления костной ткани.

UPR И ОСТЕОКЛАСТОГЕНЕЗ

Остеокласты – тканеспецифичные многоядерные макрофаги, дифференцирующиеся из моноцитарных/макрофагальных предшественников на поверхности или около поверхности кости [83]. Они играют важную роль в резорбции и ремоделировании кости, и их активность тщательно регулируется гормонами и цитокинами для того, чтобы обеспечить баланс между резорбцией кости и её формированием [84]. Нарушение этого баланса в сторону избыточной резорбции ведёт к таким патологиям, как остеопороз, метастазирование в костях, разрушение костей при артрите и периодонтит [84, 85]. Дифференцировка остеокластов запускается связыванием рецептора-активатора ядерного фактора *NF-κB* (*RANK*), расположенного на поверхности предшественников остеокластов, с лигандом *RANK* (*RANKL*), расположенным на поверхности остеобластов и остеоцитов [83, 84]. После связывания с лигандом *RANK* активирует различные сигнальные пути, а также индуцирует колебания внутриклеточной концентрации кальция, что ведёт к активации транскрипционных факторов остеокластогенеза, таких как протоонкоген *c-Fos* и ядерный фактор активированных T-клеток, цитоплазматический 1 (*NFATc1*) [84]. Исследования последних лет показали, что в дифференцировке остеокластов важную роль играют сигнальные пути *UPR*, а именно: ветви *IRE1/XBP1* и *PERK/eIF2*.

Роль сигнального пути *IRE1*. В ходе остеокластогенеза *in vitro*, индуцированного с помощью рекомбинантного *RANKL* и колониестимулирующего фактора 1 (*CSF1*) мыши, путь *IRE1/XBP1* активируется в начале дифферен-

цировки, достигает пика активности на второй день после индукции остеокластогенеза, а затем инактивируется [84]. Подавление IRE1/XBP1 значительно репрессирует остеокластогенез, что ведёт к уменьшению числа остеокластов и увеличению костной массы *in vivo*. Это связано с тем, что sXBP1 является транскрипционным фактором мастер-регулятора остеокластогенеза NFATc1 и стимулирует его транскрипцию, непосредственно связываясь с промотором гена *NFATc1*. Подавление IRE1/XBP1 ведёт к супрессии транскрипции *NFATc1* и остеокластогенеза. При этом подавление IRE1 не влияет на экспрессию других транскрипционных факторов дифференцировки остеокластов [84]. Предполагается, что путь IRE1/XBP1 при остеокластогенезе активируется из-за физиологического стресса ЭПР, косвенно вызываемого колебаниями концентрации кальция, как следствие сигналинга RANKL–RANK. Активация IRE1/XBP1, в свою очередь, стимулирует транскрипцию *NFATc1* [84].

Следует отметить, что внеклеточные везикулы из клеток множественной миеломы индуцируют остеокластогенез в кости путём активации механизма IRE1/XBP1, что ведёт к заболеваниям костей, которыми страдают более 70% пациентов с множественной миеломой [86]. Сигнальные молекулы UPR (например, GRP94 и GRP78) являются карго для внеклеточных везикул клеток множественной миеломы, и поглощение таких везикул макрофагами мыши Raw264.7 быстро запускает фосфорилирование IRE1, сплайсинг XBP1 и активацию транскрипции *NFATc1*. Соответственно, подавление в макрофагах мыши пути IRE1/XBP1 с помощью селективного ингибитора IRE1 GSK2850163 при одновременном введении в культуральную среду внеклеточных везикул из клеток множественной миеломы ингибирует экспрессию *NFATc1* и препятствует дифференцировке макрофагов в остеокласты. При этом подавляется и резорбционная активность таких макрофагов [86].

Роль сигнального пути PERK. RANKL-индуцированный остеокластогенез сопровождается активацией пути PERK. Ингибирование PERK с помощью GSK2606414 подавляет формирование остеокластов и их резорбционную активность, в том числе при моделировании остеопороза у мышей [85]. Кроме того, ATF4 является транскрипционным активатором для *NFATc1*. Остеокластогенез подавляется при нокауте *ATF4 in vitro* и *in vivo* и усиливается при искусственном повышении экспрессии *ATF4* [87]. Предположительно, активатором физиологического стресса ЭПР,

стимулирующего остеокластогенез, а точнее, активатором PERK, является окислительный стресс [85].

Влияние индукторов стресса ЭПР на остеокластогенез. Участие стресса ЭПР в остеокластогенезе наводит на мысль о возможности стимулировать дифференцировку остеокластов с помощью индукторов стресса ЭПР. Действительно, показано, что индуктор стресса ЭПР, тапсигаргин, может запускать остеокластогенез, активируя экспрессию и синтез NFATc1 и маркёров остеокластов [88, 89]. При этом химический шаперон и ингибитор стресса ЭПР, 4-PBA, подавляет остеокластогенез и активацию NFATc1 как в присутствии тапсигаргина, так и без него [89]. Кроме того, 4-PBA подавляет остеокластогенез, индуцированный частицами полиэтилена (средний диаметр частиц 65 нм), которые также активируют стресс ЭПР [90]. Такролимус (иммуносупрессирующее соединение, блокирующее активацию T-клеток при ревматоидном артрите) ингибирует стимулированный тапсигаргином стресс ЭПР и остеокластогенез, подавляя экспрессию *NFATc1* [91]. Другой индуктор стресса ЭПР, туникамицин, также стимулирует остеокластогенез, индуцируя экспрессию маркёров остеокластов [88].

Примечательно то, что 0,05 и 0,1 нМ тапсигаргин стимулируют остеокластогенез, в то время как тапсигаргин в концентрации 0,2 нМ не оказывает влияния на остеокластогенез [85]. Это свидетельствует о том, что остеокластогенез стимулируется только определёнными уровнями стресса ЭПР. Это предположение подтверждают данные о влиянии салубринала на дифференцировку остеокластов [92]. Салубринал повышает фосфорилирование и, как следствие, инактивацию eIF2 α , что снижает общий синтез белков, включая NFATc1, и подавляет дифференцировку остеокластов из клеток костного мозга мыши [92, 93]. Кроме того, салубринал смягчает признаки остеопороза в мышечной модели остеопороза [93]. Возможно, салубринал индуцирует слишком сильный стресс ЭПР, что приводит не к стимуляции дифференцировки, а к её подавлению.

Таким образом, сигнальные пути, активируемые IRE1 и PERK, стимулируют остеокластогенез. В связи с этим для подавления остеокластогенеза необходимо ингибировать оба этих пути.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Активация стресса ЭПР и UPR являются необходимыми условиями для дифференцировки

фибробластов в миофибробласты, а также для дифференцировки клеток в ходе адипогенеза, миогенеза, остеобластогенеза и остеокластогенеза (рис. 2). По-видимому, именно хронический/физиологический стресс ЭПР стимулирует дифференцировку этих клеток, в то время как острый/патологический стресс ЭПР ингибирует дифференцировку и может запускать гибель клеток. Как видно из рис. 2, все три сигнальных пути UPR стимулируют адипогенез, эмбриональный миогенез и остеобластогенез. Дифференцировка фибробластов в миофибробласты стимулируется сигнальными путями IRE1 и PERK, а сигнальный путь с участием ATF6 подавляет дифференцировку. В регенеративном миогенезе обнаружено участие только сигнального пути PERK, что сви-

детельствует о различии в регуляции миогенеза в эмбриональном и постнатальном периоде и потенциальной возможности контролировать регенерацию мышечной ткани, регулируя активность этого сенсора стресса ЭПР. Интересно, что некоторые компоненты UPR являются транскрипционными факторами, активирующими экспрессию генов-маркёров дифференцировки. Например, sXBP1 связывается с промотором транскрипционного фактора адипогенеза *C/EBP α* и фактора остеобластогенеза *Osx*, а ATF4 является транскрипционным фактором для *Osx* и маркёра остеобластогенеза *OCN*. Пока неясно, является ли UPR индуктором дифференцировки клеток мезенхимного происхождения или же UPR запускается в процессе дифференцировки, например, из-за по-

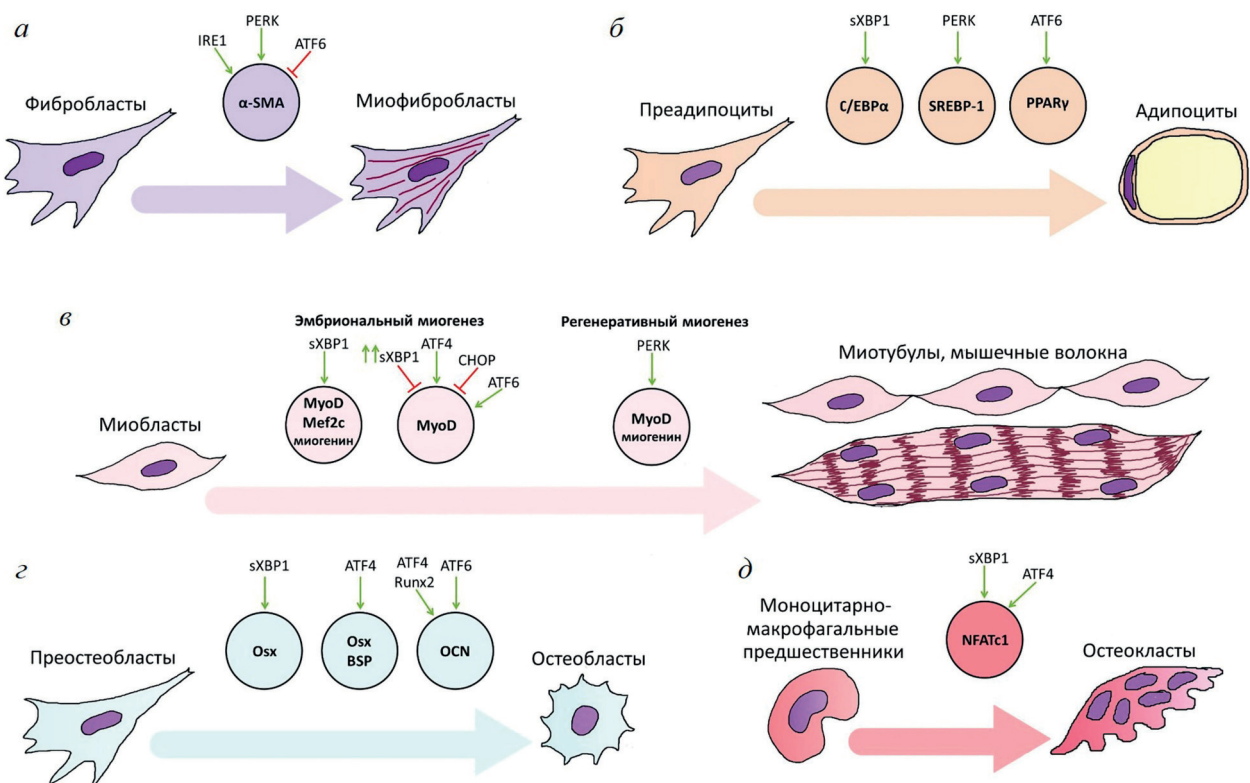


Рис. 2. Роль различных путей стресса ЭПР (IRE1, PERK, ATF6) в дифференцировке клеток мезенхимного происхождения. Дифференцировка фибробластов, преадипоцитов, миобластов, преостеобластов и моноцитарно-макрофагальных предшественников в более зрелые формы сопровождается активацией стресса ЭПР и обозначена стрелками соответствующих цветов. В кружках таких же цветов приведены названия маркёров дифференцировки для каждого типа клеток. Зелёными стрелками обозначена стимуляция синтеза маркёров дифференцировки сенсорами или участниками сигнальных каскадов UPR, красными линиями – подавление синтеза. *a* – Дифференцировка фибробластов в миофибробласты; *б* – дифференцировка преадипоцитов в адипоциты; *в* – дифференцировка миобластов в миотубулы и мышечные волокна (различия в эмбриональном и регенеративном миогенезах); *г* – дифференцировка преостеобластов в остеобласты; *д* – дифференцировка моноцитарно-макрофагальных предшественников в остеокласты. Сокращения: ATF4 – активирующий фактор транскрипции 4; ATF6 – активирующий фактор транскрипции 6; BSP – костный сиалопротеин; C/EBP α – ССААТ/энхансер-связывающий белок α ; CHOP – ССААТ/белок, гомологичный энхансер-связывающему белку; IRE1 – требующий инозитол белок 1; Mef2c – специфичный для миоцитов энхансерный фактор 2c; Myf5 – миогенный фактор 5; MyoD – белок детерминации миобластов 1; NFATc1 – ядерный фактор активированных Т-клеток, цитоплазматический 1; OCN – остеокальцин; Osx – транскрипционный фактор Osterix; PERK – киназа ЭПР, подобная белковой киназе RNA; PPAR γ – рецепторы, активируемые пролифераторами пероксисом γ ; Runx2 – фактор транскрипции 2, связанный с доменом runt; α -SMA – гладкомышечный актин α ; SREBP-1 – белок, связывающийся с регуляторным элементом стерола-1; sXBP1 – сплайсированный X-box-связывающий белок 1

вышенного синтеза секреторных белков. Следует отметить, что усиление или подавление дифференцировки может играть критическую роль, внося вклад в развитие многих заболеваний. Так, например, избыточная дифференцировка фибробластов, адипоцитов и остеокластов вызывает фиброз, ожирение и остеопороз. Фиброз в настоящее время вызывает особый интерес, так как является одним из основных последствий COVID-19. Изучение механизмов участия UPR в дифференцировке клеток и способов влияния на сигнальные пути UPR открывает перспективы для поиска препаратов, позволяющих тонко регулировать и даже перенастраивать процессы, разбалансированные при нарушениях развития организма или возникновении патологических состояний.

Вклад авторов. Е.П. Турищева – работа с литературой и написание текста статьи; М.С. Вильданова – авторство рисунков; Е.А. Смирнова, Г.Е. Онищенко – редактирование текста статьи.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты №№ 19-015-00233 и 20-315-90118) в рамках научного проекта государственного задания МГУ № 121032300098-5.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Osowski, C. M., and Urano, F. (2011) Measuring ER stress and the unfolded protein response using mammalian tissue culture system, *Method. Enzymol.*, **490**, 71-92, doi: 10.1016/B978-0-12-385114-7.00004-0.
2. Sicari, D., Delaunay-Moisan, A., Combettes, L., Chevet, E., and Igarria, A. (2020) A guide to assessing endoplasmic reticulum homeostasis and stress in mammalian systems, *FEBS J.*, **287**, 27-42, doi: 10.1111/febs.15107.
3. Hwang, J., and Qi, L. (2018) Quality control in the endoplasmic reticulum: crosstalk between ERAD and UPR pathways, *TiBS*, **43**, 593-605, doi: 10.1016/j.tibs.2018.06.005.
4. Fregno, I., and Molinari, M. (2019) Proteasomal and lysosomal clearance of faulty secretory proteins: ER-associated degradation (ERAD) and ER-to-lysosome-associated degradation (ERLAD) pathways, *Crit. Rev. Biochem. Mol.*, **54**, 153-163, doi: 10.1080/10409238.2019.1610351.
5. Chadwick, S. R., and Lajoie, P. (2019) Endoplasmic reticulum stress coping mechanisms and lifespan regulation in health and diseases, *Front. Cell Dev. Biol.*, **7**, 84, doi: 10.3389/fcell.2019.00084.
6. Liu, E. S., Ou, J. H., and Lee, A. S. (1992) Brefeldin A as a regulator of *grp78* gene expression in mammalian cells, *J. Biol. Chem.*, **267**, 7128-7133, doi: 10.1016/S0021-9258(19)50547-6.
7. Yoshida, I., Monji, A., Tashiro, K. I., Nakamura, K. I., Inoue, R., et al. (2006) Depletion of intracellular Ca²⁺ store itself may be a major factor in thapsigargin-induced ER stress and apoptosis in PC12 cells, *Neurochem. Int.*, **48**, 696-702, doi: 10.1016/j.neuint.2005.12.012.
8. Li, B., Yi, P., Zhang, B., Xu, C., Liu, Q., et al. (2011) Differences in endoplasmic reticulum stress signalling kinetics determine cell survival outcome through activation of MKP-1, *Cell. Signal.*, **23**, 35-45, doi: 10.1016/j.cellsig.2010.07.019.
9. Corazzari, M., Gagliardi, M., Fimia, G. M., and Piacentini, M. (2017) Endoplasmic reticulum stress, unfolded protein response, and cancer cell fate, *Front. Oncol.*, **7**, 78, doi: 10.3389/fonc.2017.00078.
10. Almanza, A., Carlesso, A., Chintha, C., Creedican, S., Doultinos, D., et al. (2019) Endoplasmic reticulum stress signalling – from basic mechanisms to clinical applications, *FEBS J.*, **286**, 241-278, doi: 10.1111/febs.14608.
11. Hetz, C. (2012) The unfolded protein response: controlling cell fate decisions under ER stress and beyond, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **13**, 89-102, doi: 10.1038/nrm3270.
12. Oakes, S. A., and Papa, F. R. (2015) The role of endoplasmic reticulum stress in human pathology, *Annu. Rev. Pathol.*, **10**, 173-194, doi: 10.1146/annurev-pathol-012513-104649.
13. Celli, A., Mackenzie, D. S., Crumrine, D. S., Tu, C. L., Hupe, M., et al. (2011) Endoplasmic reticulum Ca²⁺ depletion activates XBP1 and controls terminal differentiation in keratinocytes and epidermis, *Brit. J. Dermatol.*, **164**, 16-25, doi: 10.1111/j.1365-2133.2010.10046.x.
14. Matsuzaki, S., Hiratsuka, T., Taniguchi, M., Shingaki, K., Kubo, T., et al. (2015) Physiological ER stress mediates the differentiation of fibroblasts, *PLoS One*, **10**, e0123578, doi: 10.1371/journal.pone.0123578.
15. Nakanishi, K., Kakiguchi, K., Yonemura, S., Nakano, A., and Morishima, N. (2015) Transient Ca²⁺ depletion from the endoplasmic reticulum is critical for skeletal myoblast differentiation, *FASEB J.*, **29**, 2137-2149, doi: 10.1096/fj.14-261529.

16. Muraio, N., and Nishitoh, H. (2017) Role of the unfolded protein response in the development of central nervous system, *J. Biochem.*, **162**, 155-162, doi: 10.1093/jb/mvx047.
17. Vildanova, M., Saidova, A., Fokin, A., Potashnikova, D., Onishchenko, G., et al. (2019) Jasmonic acid induces endoplasmic reticulum stress with different outcome in cultured normal and tumor epidermal cells, *Biochemistry (Moscow)*, **84**, 1289-1300, doi: 10.1134/S0320972519090070.
18. Vildanova, M., Vishnyakova, P., Saidova, A., Konduktorova, V., Onishchenko, G., et al. (2021) Gibberellic acid initiates ER stress and activation of differentiation in cultured human immortalized keratinocytes HaCaT and epidermoid carcinoma cells A431, *Pharmaceutics*, **13**, 1813, doi: 10.3390/pharmaceutics13111813.
19. Турищева Е. П., Вильданова М. С., Поташникова Д. М., Смирнова Е. А. (2020) Различная реакция биосинтетической системы дермальных фибробластов и клеток фибросаркомы человека на действие растительных гормонов, *Цитология*, **62**, 566-580, doi: 10.31857/S0041377120080088.
20. Calfon, M., Zeng, H., Urano, F., Till, J. H., Hubbard, S. R., et al. (2002) IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA, *Nature*, **415**, 92-96, doi: 10.1038/415092a.
21. Lee, A. H., Iwakoshi, N. N., and Glimcher, L. H. (2003) XBP-1 regulates a subset of endoplasmic reticulum resident chaperone genes in the unfolded protein response, *Mol. Cell. Biol.*, **23**, 7448-7459, doi: 10.1128/MCB.23.21.7448-7459.2003.
22. Lam, W. Y., and Bhattacharya, D. (2018) Metabolic links between plasma cell survival, secretion, and stress, *Trends Immunol.*, **39**, 19-27, doi: 10.1016/j.it.2017.08.007.
23. Teske, B. F., Wek, S. A., Bunpo, P., Cundiff, J. K., McClintick, J. N., et al. (2011) The eIF2 kinase PERK and the integrated stress response facilitate activation of ATF6 during endoplasmic reticulum stress, *Mol. Biol. Cell*, **22**, 4390-4405, doi: 10.1091/mbc.e11-06-0510.
24. Gardner, B. M., Pincus, D., Gotthardt, K., Gallagher, C. M., and Walter, P. (2013) Endoplasmic reticulum stress sensing in the unfolded protein response, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **5**, a013169, doi: 10.1101/cshperspect.a013169.
25. Yoshida, H., Haze, K., Yanagi, H., Yura, T., and Mori, K. (1998) Identification of the cis-acting endoplasmic reticulum stress response element responsible for transcriptional induction of mammalian glucose-regulated proteins: involvement of basic leucine zipper transcription factors, *J. Biol. Chem.*, **273**, 33741-33749, doi: 10.1074/jbc.273.50.33741.
26. Ye, J., Rawson, R. B., Komuro, R., Chen, X., Davé, U. P., et al. (2000) ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs, *Mol. Cell*, **6**, 1355-1364, doi: 10.1016/S1097-2765(00)00133-7.
27. Kendall, R. T., and Feghali-Bostwick, C. A. (2014) Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators, *Front. Pharmacol.*, **5**, 123, doi: 10.3389/fphar.2014.00123.
28. Desai, V. D., Hsia, H. C., and Schwarzbauer, J. E. (2014) Reversible modulation of myofibroblast differentiation in adipose-derived mesenchymal stem cells, *PLoS One*, **9**, e86865, doi: 10.1371/journal.pone.0086865.
29. Heindryckx, F., Binet, F., Ponticos, M., Rombouts, K., Lau, J., et al. (2016) Endoplasmic reticulum stress enhances fibrosis through IRE1 α -mediated degradation of miR-150 and XBP-1 splicing, *EMBO Mol. Med.*, **8**, 729-744, doi: 10.15252/emmm.201505925.
30. Zhong, Q., Zhou, B., Ann, D. K., Minoo, P., Liu, Y., et al. (2011) Role of endoplasmic reticulum stress in epithelial-mesenchymal transition of alveolar epithelial cells: effects of misfolded surfactant protein, *Am. J. Resp. Cell Mol.*, **45**, 498-509, doi: 10.1165/rcmb.2010-0347OC.
31. Baek, H. A., Kim, D. S., Park, H. S., Jang, K. Y., Kang, M. J., et al. (2012) Involvement of endoplasmic reticulum stress in myofibroblastic differentiation of lung fibroblasts, *Am. J. Resp. Cell Mol.*, **46**, 731-739, doi: 10.1165/rcmb.2011-0121OC.
32. Chen, Y. C., Chen, B. C., Huang, H. M., Lin, S. H., and Lin, C. H. (2019) Activation of PERK in ET-1-and thrombin-induced pulmonary fibroblast differentiation: Inhibitory effects of curcumin, *J. Cell. Physiol.*, **234**, 15977-15988, doi: 10.1002/jcp.28256.
33. Jiang, S., He, R., Zhu, L., Liang, T., Wang, Z., et al. (2018) Endoplasmic reticulum stress-dependent ROS production mediates synovial myofibroblastic differentiation in the immobilization-induced rat knee joint contracture model, *Exp. Cell Res.*, **369**, 325-334, doi: 10.1016/j.yexcr.2018.05.036.
34. Qin, X., Lin, X., Liu, L., Li, Y., Li, X., et al. (2021) Macrophage-derived exosomes mediate silica-induced pulmonary fibrosis by activating fibroblast in an endoplasmic reticulum stress-dependent manner, *J. Cell. Mol. Med.*, **25**, 4466-4477, doi: 10.1111/jcmm.16524.
35. Song, M., Peng, H., Guo, W., Luo, M., Duan, W., et al. (2019) Cigarette smoke extract promotes human lung myofibroblast differentiation by the induction of endoplasmic reticulum stress, *Respiration*, **98**, 347-356, doi: 10.1159/000502099.
36. Stauffer, W. T., Blackwood, E. A., Azizi, K., Kaufman, R. J., and Glembotski, C. C. (2020) The ER unfolded protein response effector, ATF6, reduces cardiac fibrosis and decreases activation of cardiac fibroblasts, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 1373, doi: 10.3390/ijms21041373.
37. Sriburi, R., Jackowski, S., Mori, K., and Brewer, J. W. (2004) XBP1: a link between the unfolded protein response, lipid biosynthesis, and biogenesis of the

- endoplasmic reticulum, *J. Cell Biol.*, **167**, 35-41, doi: 10.1083/jcb.200406136.
38. Ali, A. T., Hochfeld, W. E., Myburgh, R., and Pepper, M. S. (2013) Adipocyte and adipogenesis, *Eur. J. Cell Biol.*, **92**, 229-236, doi: 10.1016/j.ejcb.2013.06.001.
 39. Basseri, S., Lhoták, Š., Sharma, A. M., and Austin, R. C. (2009) The chemical chaperone 4-phenylbutyrate inhibits adipogenesis by modulating the unfolded protein response, *J. Lipid Res.*, **50**, 2486-2501, doi: 10.1194/jlr.M900216-JLR200.
 40. Sha, H., He, Y., Chen, H., Wang, C., Zenno, A., et al. (2009) The IRE1 α -XBP1 pathway of the unfolded protein response is required for adipogenesis, *Cell Metab.*, **9**, 556-564, doi: 10.1016/j.cmet.2009.04.009.
 41. Batchvarova, N., Wang, X. Z., and Ron, D. (1995) Inhibition of adipogenesis by the stress-induced protein CHOP (Gadd153), *EMBO J.*, **14**, 4654-4661, doi: 10.1002/j.1460-2075.1995.tb00147.x.
 42. Shimada, T., Hiramatsu, N., Okamura, M., Hayakawa, K., Kasai, A., et al. (2007) Unexpected blockade of adipocyte differentiation by K-7174: implication for endoplasmic reticulum stress, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **363**, 355-360, doi: 10.1016/j.bbrc.2007.08.167.
 43. Bobrovnikova-Marjon, E., Hatzivassiliou, G., Grigoriadou, C., Romero, M., Cavener, D. R., et al. (2008) PERK-dependent regulation of lipogenesis during mouse mammary gland development and adipocyte differentiation, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 16314-16319, doi: 10.1073/pnas.0808517105.
 44. Bobrovnikova-Marjon, E., Pytel, D., Riese, M. J., Vaites, L. P., Singh, N., et al. (2012) PERK utilizes intrinsic lipid kinase activity to generate phosphatidic acid, mediate Akt activation, and promote adipocyte differentiation, *Mol. Cell. Biol.*, **32**, 2268-2278, doi: 10.1128/MCB.00063-12.
 45. Han, J., Murthy, R., Wood, B., Song, B., Wang, S., et al. (2013) ER stress signalling through eIF2 α and CHOP, but not IRE1 α , attenuates adipogenesis in mice, *Diabetologia*, **56**, 911-924, doi: 10.1007/s00125-012-2809-5.
 46. Longo, M., Spinelli, R., D'Esposito, V., Zatterale, F., Fiory, F., et al. (2016) Pathologic endoplasmic reticulum stress induced by glucotoxic insults inhibits adipocyte differentiation and induces an inflammatory phenotype, *BBA-Mol. Cell Res.*, **1863**, 1146-1156, doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.02.019.
 47. Kang, S. U., Kim, H. J., Kim, D. H., Han, C. H., Lee, Y. S., et al. (2018) Nonthermal plasma treated solution inhibits adipocyte differentiation and lipogenesis in 3T3-L1 preadipocytes via ER stress signal suppression, *Sci. Rep.*, **8**, 1-12, doi: 10.1038/s41598-018-20768-5.
 48. Lowe, C. E., Dennis, R. J., Obi, U., O'Rahilly, S., and Rochford, J. J. (2012) Investigating the involvement of the ATF6 α pathway of the unfolded protein response in adipogenesis, *Int. J. Obesity*, **36**, 1248-1251, doi: 10.1038/ijo.2011.233.
 49. Mohan, S., Brown, L., and Ayyappan, P. (2019) Endoplasmic reticulum stress: a master regulator of metabolic syndrome, *Eur. J. Pharmacol.*, **860**, 172553, doi: 10.1016/j.ejphar.2019.172553.
 50. Carlson, S. G., Fawcett, T. W., Bartlett, J. D., Bernier, M., and Holbrook, N. J. (1993) Regulation of the C/EBP-related gene gadd153 by glucose deprivation, *Mol. Cell. Biol.*, **13**, 4736-4744, doi: 10.1128/mcb.13.8.4736-4744.1993.
 51. Lee, J. M., Park, S., Lee, D., Ginting, R. P., Lee, M. R., et al. (2021) Reduction in endoplasmic reticulum stress activates beige adipocytes differentiation and alleviates high fat diet-induced metabolic phenotypes, *BBA-Mol. Basis Dis.*, **1867**, 166099, doi: 10.1016/j.bbadis.2021.166099.
 52. Tan, Y. Y., Zhang, Y., Li, B., Ou, Y. W., Xie, S. J., et al. (2021) PERK signaling controls myoblast differentiation by regulating microRNA networks, *Front. Cell Dev. Biol.*, **9**, 670435, doi: 10.3389/fcell.2021.670435.
 53. Chal, J., and Pourquié, O. (2017) Making muscle: skeletal myogenesis *in vivo* and *in vitro*, *Development*, **144**, 2104-2122, doi: 10.1242/dev.151035.
 54. Sincennes, M. C., Brun, C. E., and Rudnicki, M. A. (2016) Concise review: epigenetic regulation of myogenesis in health and disease, *Stem Cells Transl. Med.*, **5**, 282-290, doi: 10.5966/sctm.2015-0266.
 55. Tokutake, Y., Yamada, K., Hayashi, S., Arai, W., Watanabe, T., et al. (2020) IRE1-XBP1 pathway of the unfolded protein response is required during early differentiation of C2C12 myoblasts, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 182, doi: 10.3390/ijms21010182.
 56. Xiong, G., Hindi, S. M., Mann, A. K., Gallot, Y. S., Bohnert, K. R., et al. (2017) The PERK arm of the unfolded protein response regulates satellite cell-mediated skeletal muscle regeneration, *Elife*, **6**, e22871, doi: 10.7554/eLife.22871.
 57. Benhaddou, A., Keime, C., Ye, T., Morlon, A., Michel, I., et al. (2012) Transcription factor TEAD4 regulates expression of myogenin and the unfolded protein response genes during C2C12 cell differentiation, *Cell Death Differ.*, **19**, 220-231, doi: 10.1038/cdd.2011.87.
 58. Blais, A., Tsikitis, M., Acosta-Alvear, D., Sharan, R., Kluger, Y., et al. (2005) An initial blueprint for myogenic differentiation, *Gene Dev.*, **19**, 553-569, doi: 10.1101/gad.1281105.
 59. Acosta-Alvear, D., Zhou, Y., Blais, A., Tsikitis, M., Lents, N. H., et al. (2007) XBP1 controls diverse cell type- and condition-specific transcriptional regulatory networks, *Mol. Cell*, **27**, 53-66, doi: 10.1016/j.molcel.2007.06.011.
 60. Alter, J., and Bengal, E. (2011) Stress-induced C/EBP homology protein (CHOP) represses MyoD transcription to delay myoblast differentiation, *PLoS One*, **6**, e29498, doi: 10.1371/journal.pone.0029498.

61. Nakanishi, K., Sudo, T., and Morishima, N. (2005) Endoplasmic reticulum stress signaling transmitted by ATF6 mediates apoptosis during muscle development, *J. Cell Biol.*, **169**, 555-560, doi: 10.1083/jcb.200412024.
62. Nakanishi, K., Dohmae, N., and Morishima, N. (2007) Endoplasmic reticulum stress increases myofiber formation in vitro, *FASEB J.*, **21**, 2994-3003, doi: 10.1096/fj.06-6408com.
63. Wei, Y., Tao, X., Xu, H., Chen, Y., Zhu, L., et al. (2016) Role of miR-181a-5p and endoplasmic reticulum stress in the regulation of myogenic differentiation, *Gene*, **592**, 60-70, doi: 10.1016/j.gene.2016.07.056.
64. Wiles, B., Miao, M., Coyne, E., Larose, L., Cybulsky, A. V., et al. (2015) USP19 deubiquitinating enzyme inhibits muscle cell differentiation by suppressing unfolded-protein response signaling, *Mol. Biol. Cell*, **26**, 913-923, doi: 10.1091/mbc.E14-06-1129.
65. Yang, X., and Karsenty, G. (2004) ATF4, the osteoblast accumulation of which is determined post-translationally, can induce osteoblast-specific gene expression in non-osteoblastic cells, *J. Biol. Chem.*, **279**, 47109-47114, doi: 10.1074/jbc.M410010200.
66. Rutkovskiy, A., Stensløkken, K. O., and Vaage, I. J. (2016) Osteoblast differentiation at a glance, *Med. Sci. Monit. Basic Res.*, **22**, 95-106, doi: 10.12659/MSMBR.901142.
67. Wei, J., Sheng, X., Feng, D., McGrath, B., and Cavener, D. R. (2008) PERK is essential for neonatal skeletal development to regulate osteoblast proliferation and differentiation, *J. Cell. Physiol.*, **217**, 693-707, doi: 10.1002/jcp.21543.
68. Saito, A., Ochiai, K., Kondo, S., Tsumagari, K., Murakami, T., et al. (2011) Endoplasmic reticulum stress response mediated by the PERK-eIF2 α -ATF4 pathway is involved in osteoblast differentiation induced by BMP2, *J. Biol. Chem.*, **286**, 4809-4818, doi: 10.1074/jbc.M110.152900.
69. Zhang, K., Wang, M., Li, Y., Li, C., Tang, S., et al. (2019) The PERK-eIF2 α -ATF4 signaling branch regulates osteoblast differentiation and proliferation by PTH, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **316**, E590-E604, doi: 10.1152/ajpendo.00371.2018.
70. Murakami, T., Saito, A., Hino, S. I., Kondo, S., Kanemoto, S., et al. (2009) Signalling mediated by the endoplasmic reticulum stress transducer OASIS is involved in bone formation, *Nat. Cell Biol.*, **11**, 1205-1211, doi: 10.1038/ncb1963.
71. Jang, W. G., Kim, E. J., Kim, D. K., Ryoo, H. M., Lee, K. B., et al. (2012) BMP2 protein regulates osteocalcin expression via Runx2-mediated Atf6 gene transcription, *J. Biol. Chem.*, **287**, 905-915, doi: 10.1074/jbc.M111.253187.
72. Son, H. E., Kim, E. J., and Jang, W. G. (2018) Curcumin induces osteoblast differentiation through mild-endoplasmic reticulum stress-mediated such as BMP2 on osteoblast cells, *Life Sci.*, **193**, 34-39, doi: 10.1016/j.lfs.2017.12.008.
73. Tohmonda, T., Miyauchi, Y., Ghosh, R., Yoda, M., Uchikawa, S., et al. (2011) The IRE1 α -XBP1 pathway is essential for osteoblast differentiation through promoting transcription of Osterix, *EMBO Rep.*, **12**, 451-457, doi: 10.1038/embor.2011.34.
74. Guo, F. J., Jiang, R., Xiong, Z., Xia, F., Li, M., et al. (2014) IRE1 α constitutes a negative feedback loop with BMP2 and acts as a novel mediator in modulating osteogenic differentiation, *Cell Death Dis.*, **5**, e1239, doi: 10.1038/cddis.2014.194.
75. Yang, X., Matsuda, K., Bialek, P., Jacquot, S., Masuoka, H. C., et al. (2004) ATF4 is a substrate of RSK2 and an essential regulator of osteoblast biology: implication for Coffin-Lowry syndrome, *Cell*, **117**, 387-398, doi: 10.1016/S0092-8674(04)00344-7.
76. Xiao, G., Jiang, D., Ge, C., Zhao, Z., Lai, Y., et al. (2005) Cooperative interactions between activating transcription factor 4 and Runx2/Cbfa1 stimulate osteoblast-specific osteocalcin gene expression, *J. Biol. Chem.*, **280**, 30689-30696, doi: 10.1074/jbc.M500750200.
77. Yu, S., Franceschi, R. T., Luo, M., Fan, J., Jiang, D., et al. (2009) Critical role of activating transcription factor 4 in the anabolic actions of parathyroid hormone in bone, *PLoS One*, **4**, e7583, doi: 10.1371/journal.pone.0007583.
78. Yang, S., Hu, L., Wang, C., and Wei, F. (2020) PERK-eIF2 α -ATF4 signaling contributes to osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells, *J. Mol. Histol.*, **51**, 125-135, doi: 10.1007/s10735-020-09863-y.
79. Yu, S., Zhu, K., Lai, Y., Zhao, Z., Fan, J., et al. (2013) ATF4 promotes β -catenin expression and osteoblastic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells, *Int. J. Biol. Sci.*, **9**, 256-266, doi: 10.7150/ijbs.5898.
80. Jang, W. G., Kim, E. J., and Koh, J. T. (2011) Tunicamycin negatively regulates BMP2-induced osteoblast differentiation through CREBH expression in MC3T3E1 cells, *BMB Rep.*, **44**, 735-740, doi: 10.5483/BMBRep.2011.44.11.735.
81. Shi, M., Song, W., Han, T., Chang, B., Li, G., et al. (2017) Role of the unfolded protein response in topography-induced osteogenic differentiation in rat bone marrow mesenchymal stem cells, *Acta Biomater.*, **54**, 175-185, doi: 10.1016/j.actbio.2017.03.018.
82. Tanaka, K. I., Yamaguchi, T., Kaji, H., Kanazawa, I., and Sugimoto, T. (2013) Advanced glycation end products suppress osteoblastic differentiation of stromal cells by activating endoplasmic reticulum stress, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **438**, 463-467, doi: 10.1016/j.bbrc.2013.07.126.
83. Boyle, W. J., Simonet, W. S., and Lacey, D. L. (2003) Osteoclast differentiation and activation, *Nature*, **423**, 337-342, doi: 10.1038/nature01658.
84. Tohmonda, T., Yoda, M., Iwakaki, T., Matsumoto, M., Nakamura, M., et al. (2015) IRE1 α /XBP1-medi-

- ated branch of the unfolded protein response regulates osteoclastogenesis, *J. Clin. Invest.*, **125**, 3269-3279, doi: 10.1172/JCI76765.
85. Guo, J., Ren, R., Sun, K., Yao, X., Lin, J., et al. (2020) PERK controls bone homeostasis through the regulation of osteoclast differentiation and function, *Cell Death Dis.*, **11**, 1-16, doi: 10.1038/s41419-020-03046-z.
86. Raimondi, L., De Luca, A., Fontana, S., Amodio, N., Costa, V., et al. (2020) Multiple myeloma-derived extracellular vesicles induce osteoclastogenesis through the activation of the XBP1/IRE1 α axis, *Cancers*, **12**, 2167, doi: 10.3390/cancers12082167.
87. Cao, H., Yu, S., Yao, Z., Galson, D. L., Jiang, Y., et al. (2010) Activating transcription factor 4 regulates osteoclast differentiation in mice, *J. Clin. Invest.*, **120**, 2755-2766, doi: 10.1172/JCI42106.
88. Wang, K., Niu, J., Kim, H., and Kolattukudy, P. E. (2011) Osteoclast precursor differentiation by MCP1P via oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and autophagy, *J. Mol. Cell Biol.*, **3**, 360-368, doi: 10.1093/jmcb/mjr021.
89. Lee, E. G., Sung, M. S., Yoo, H. G., Chae, H. J., Kim, H. R., et al. (2014) Increased RANKL-mediated osteoclastogenesis by interleukin-1 β and endoplasmic reticulum stress, *Joint Bone Spine*, **81**, 520-526, doi: 10.1016/j.jbspin.2014.04.012.
90. Zhang, L., Bao, D., Li, P., Lu, Z., Pang, L., et al. (2018) Particle-induced SIRT1 downregulation promotes osteoclastogenesis and osteolysis through ER stress regulation, *Biomed. Pharmacother.*, **104**, 300-306, doi: 10.1016/j.biopha.2018.05.030.
91. Lee, W. S., Jeong, J. H., Lee, E. G., Choi, Y., Kim, J. H., et al. (2017) Tacrolimus regulates endoplasmic reticulum stress-mediated osteoclastogenesis and inflammation: *in vitro* and collagen-induced arthritis mouse model, *Cell Biol. Int.*, **42**, 393-402, doi: 10.1002/cbin.10861.
92. He, L., Lee, J., Jang, J. H., Sakchaisri, K., Hwang, J., et al. (2013) Osteoporosis regulation by salubrinal through eIF2 α mediated differentiation of osteoclast and osteoblast, *Cell. Signal.*, **25**, 552-560, doi: 10.1016/j.cellsig.2012.11.015.
93. Li, J., Li, X., Liu, D., Hamamura, K., Wan, Q., et al. (2019) eIF2 α signaling regulates autophagy of osteoblasts and the development of osteoclasts in OVX mice, *Cell Death Dis.*, **10**, 1-15, doi: 10.1038/s41419-019-2159-z.

ROLE OF ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS IN DIFFERENTIATION OF MESENCHYMAL CELLS

Review

E. P. Turishcheva*, M. S. Vildanova, G. E. Onishchenko, and E. A. Smirnova

*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University,
119991 Moscow, Russia; e-mail: kitten-caterina@yandex.ru*

The endoplasmic reticulum (ER) is a multifunctional membrane compartment, which is responsible for the synthesis and processing of secretory, lysosomal and transmembrane proteins. Incorrect processing of proteins during disturbed ER homeostasis leads to the development of the ER stress. To restore the normal ER function, cells utilize the specific adaptive mechanism — unfolded protein response (UPR). In addition to controlling of protein folding, UPR plays a key role in other physiological processes, such as differentiation of connective tissue, muscle, epithelial and neural cells. Moreover, only the physiological level of ER stress stimulates differentiation, while the increased level of ER stress suppresses differentiation and may cause the cell death. It is currently unknown whether UPR activation acts as an inducer of cell differentiation or UPR is triggered by increased synthesis of secretory proteins during differentiation. Cell differentiation is an important step in the development of multicellular organisms, so this process must be effectively controlled. Suppression or, conversely, excessive activation of differentiation leads to the development of pathological processes in the organism. For instance, disbalance in the level of differentiation of the connective tissue may lead to the development of obesity, osteoporosis, and fibrosis. The latter is currently a subject of thorough investigation, because appeared to be one of the consequences of COVID-19 infection. Therefore, further investigations of the crosstalk between UPR and cellular differentiation may lead to the identification of potential molecular targets that allow selective regulation of different stages of differentiation and influence the mechanisms leading to the development of pathological processes.

Keywords: endoplasmic reticulum, differentiation, endoplasmic reticulum stress, UPR, myofibroblasts, fibrosis, adipogenesis, myogenesis, osteoblastogenesis, osteoclastogenesis