

КЛЕТОЧНЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ХРОНИЧЕСКИХ
НЕИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙЮ.П. Никитин¹, Е.Н. Воробьева^{2,3}, Г.И. Симонова^{1,3}, Р.И. Воробьев³, А.С. Казызаева²¹ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАМН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1²ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России
656049, Алтайский край, г. Барнаул, ул. Ленина, 40³Алтайская лаборатория эпидемиологии, прогнозирования и профилактики хронических неинфекционных заболеваний ФГБУ «НИИ терапии и профилактической медицины» СО РАМН
656049, Алтайский край, г. Барнаул, ул. Ленина, 40

Кавеолы — это инвагинации плазматической мембраны большинства дифференцированных клеток. Они особенно обильны в эндотелиальных клетках, адипоцитах, миоцитах и фибробластах. Мембрана кавеол обогащена холестерином, сфинголипидами и их обязательным структурным белковым компонентом — кавеוליном (1, 2 и 3). В многочисленных исследованиях была продемонстрирована важная роль кавеол и кавеолинов в различных функциях клетки, включая процессы эндоцитоза, гомеостаз липидов, сигнальную трансдукцию и онко-супрессию. Выведение кавеолиндефицитных мышей позволило анализировать функции кавеол и кавеолинов в отношении физиологии человека. В последние годы накапливаются доказательства вовлечения кавеолинов в патогенез заболеваний человека, включая атеросклероз, сахарный диабет 2 типа, рак, мышечные дистрофии и др. В обзоре описана роль кавеол и кавеолинов в норме и патологии.

Ключевые слова: атеросклероз, кавеолы, кавеолин-1, плазматическая мембрана.

Многочисленные исследования доказывают, что кавеолы играют важную роль в транспорте холестерина (ХС) и регуляции его внутриклеточной концентрации [1–3]. В 1953 г. лауреат Нобелевской премии G. Palade сообщил о присутствии кавеол — тонких структур в кровеносных капиллярах [4]. E. Yamada (1955 г.) описал сходные «cave-like» структуры в эпителии желчного пузыря мыши и обозначил их как «caveolae intracellulares» [5] (рис. 1).

Кавеолы представляют собой U-образные (50–100 нм) инвагинации плазматической мембраны (ПМ) большинства дифференцированных клеток, их количество в разных типах кле-

ток широко варьирует. Оно особенно велико в адипоцитах, эндотелиоцитах, пневмоцитах I типа, фибробластах, клетках гладкой и поперечно-полосатой мускулатуры [1, 6, 7], а ряд клеток практически лишен данных образований (например, нейроны центральной нервной системы, лимфоциты) [7]. Сообщается, что, например, в адипоцитах кавеолы занимают более 30 % площади плазмолеммы, а в альвеолах легких (включая пневмоциты I типа и эндотелиоциты) — более 70 % [1]. Причины такой широкой вариабельности, вероятно, связаны со специфическими функциями клеток, выполнение которых опосредовано кавеолами.

Никитин Юрий Петрович — д-р мед. наук, проф., академик РАМН, заслуженный деятель науки РФ, зав. лабораторией этиопатогенеза и клиники внутренних заболеваний

Воробьева Елена Николаевна — д-р мед. наук, проф. кафедры биохимии и клинической лабораторной диагностики, зав. Алтайской лабораторией эпидемиологии, прогнозирования и профилактики ХНИЗ

Симонова Галина Ильинична — д-р мед. наук, проф., зав. лабораторией клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, научный руководитель Алтайской лаборатории эпидемиологии, прогнозирования и профилактики ХНИЗ

Воробьев Роман Иосифович — канд. мед. наук, врач-кардиолог КГБУЗ «Городская больница № 1» г. Барнаул»

Казызаева Анна Сергеевна — канд. биол. наук, доцент кафедры гигиены и основ экологии человека

© Никитин Ю.П., Воробьева Е.Н., Симонова Г.И., Воробьев Р.И., Казызаева А.С., 2014

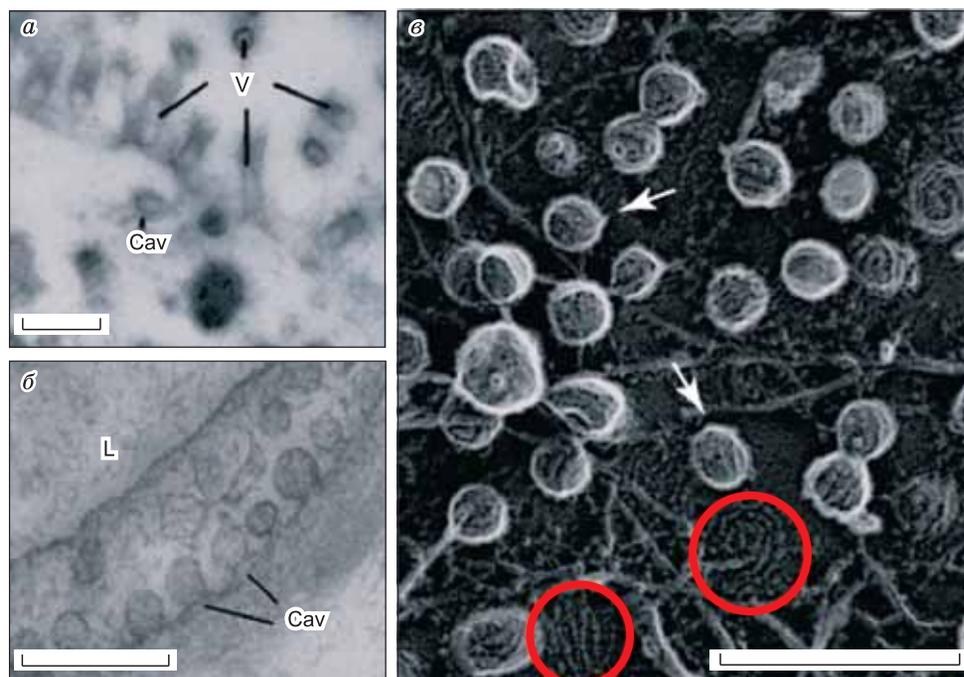


Рис. 1. Электронная микроскопия эпителия желчного пузыря мышей [5]

Дальнейшие исследования показали, что существуют также морфологические особенности кавеол в зависимости от типа клеток. Они могут быть представлены в виде изолированных от мембраны пузырьков, способных объединяться в «грозди винограда» или «розетки» либо образовывать трубочки («транселлюлярные каналы»). Причем такие нетрадиционные формы кавеол встречаются в тканях чаще. Так, «грозди винограда» обнаруживаются в клетках скелетных мышц, «розетки» — в адипоцитах, а изолированные пузырьки либо трубочки — в эндотелиоцитах [1, 8].

Функциональное значение кавеол длительное время оставалось неизвестным и ограничивалось лишь признанием их роли в везикулярном транспорте. В конце 1980-х годов были обнаружены специфические белки кавеол — кавеолыны, которые являются их обязательным структурным компонентом. С этого времени в многочисленных исследованиях была продемонстрирована важная роль кавеолынов и кавеол в различных функциях клетки, включая процессы эндоцитоза, гомеостаз липидов, сигнальную трансдукцию и онкосупрессию [1, 2].

С современных позиций ПМ представляется двумя слоями свободно расположенных фосфолипидов, среди которых располагаются так называемые «липидные плоты». Это участки мембраны, обогащенные ХС и сфинголипида-

ми (сфингомиелином и гликофосфинголипидами). Кавеолы или пузырьки плазматической мембраны представляют собой не покрытые клатрином впячивания плазматической мембраны. Основным компонентом кавеол (липидных плотов) является интегральный мембранный белок кавеолин (мол. масса 21 кДа) [1, 9], состоящий из 178 аминокислотных остатков. Кавеолыны образуют гомо- и гетероолигомеры, которые взаимодействуют с ХС и гликофосфинголипидами. Эти белок-белковые и белок-липидные взаимодействия являются движущей силой для образования кавеол [9].

Семейство кавеолынов включает 3 изоформы: кавеолин-1, кавеолин-2 и кавеолин-3 (Cav-1, Cav-2, Cav-3), молекулы которых отличаются друг от друга несколькими фрагментами аминокислотных остатков [2, 10]. Кавеолин-1 и кавеолин-2 экспрессированы в адипоцитах, эндотелиальных клетках и фибробластах; кавеолин-3 идентифицирован в мышечных клетках [9]. Максимальное сходство обнаружено между Cav-1 и Cav-3. В исследованиях установлено также, что Cav-1 и Cav-3 необходимы для формирования кавеол [11, 12], в то время как Cav-2 не может самостоятельно обеспечить кавеологенез, а взаимодействует при этом с Cav-1 [13]. По данным результатов ряда исследований повышение концентрации Cav-1 в клетках, лишенных кавеол (например, в лимфоцитах), приводит к образо-

ванию 50–100 нм инвагинаций ПМ [14]. В то же время наблюдается уменьшение количества кавеол вплоть до полного исчезновения в клетках при снижении уровня Cav-1 [15].

Согласно данным литературы, кавеолы широко представлены в дифференцированных клетках, однако отмечается четкая зависимость их распределения от типа клеток. Так, Cav-1 и Cav-2 широко представлены в адипоцитах, эндотелиальных клетках, пневмоцитах и фибробластах, в то время как экспрессия Cav-3 ограничена исключительно мышечной тканью (гладкая и поперечно-полосатая мускулатура, кардиомиоциты) [8, 10, 16]. Следует отметить, что в гладких мышцах экспрессируются все три кавеолина.

Cav-1 является интегральным белком (рис. 2). Его молекула не имеет внеклеточных участков. NH₂- и COOH-терминалы молекулы Cav-1 направлены в цитоплазму, а гидрофобный трансмембранный участок (аминокислотные остатки 102–134) встроены в мембрану. Кроме того, считается, что два его соседних региона – N-MAD (NH₂-attachment domain) и

C-MAD (COOH-attachment domain) удерживают кавеолы в плазмолемме [2, 17, 18].

Обнаружено, что в кавеолах в больших количествах представлены такие компоненты сигнальных путей, как рецепторы, связанные с G-белками [19], различные нерцепторные тирозинкиназы семейства Src [20], Ca₂⁺-АТФаза [19], Ras-белки [14], NO-синтаза [21].

Установлен также регион молекулы Cav-1 (аминокислотные остатки 82–101), ответственный за взаимодействие с сигнальными молекулами, – «поддерживающий участок» (CSD – caveolin scaffolding domain). Он взаимодействует с гидрофобным «кавеолинсвязывающим участком» (CBD – caveolin binding domain) сигнальных молекул, выступая в большинстве случаев в роли ингибитора [2].

Исследования показали, что Cav-1 существует в основном в виде высокомолекулярных гомоолигомерных комплексов, состоящих из 14–16 мономеров. Данные комплексы формируются довольно быстро после синтеза Cav-1 в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) с помощью участка олигомеризации молекулы (ами-

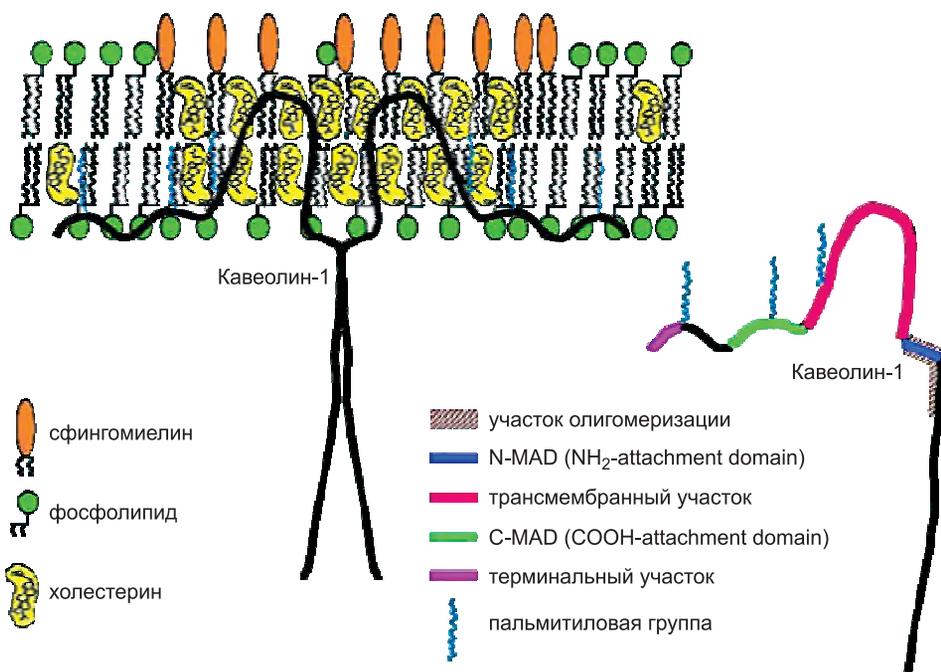


Рис. 2. Мембранная топология Cav-1 [1]. Домены C-MAD и N-MAD обеспечивают взаимодействие с мембраной, трансмембранный домен встроены в мембрану. Взаимодействие двух молекул Cav-1 осуществляется доменом олигомеризации. Поддерживающий домен взаимодействует с гидрофобным кавеолин-связывающим участком сигнальных молекул. Так как Cav-1 является интегральным белком, NH₂- и COOH-терминальные участки Cav-1 направлены внутрь клетки, а гидрофобный участок молекулы встроены в мембрану. COOH-терминал пальмитирован, NH₂-терминал фосфорилирован по тирозину. Гидрофобный участок (аминокислотные остатки 102–134) препятствует переворачиванию молекулы кавеолина в толще мембраны, при этом Cav-1 не имеет внеклеточных участков

нокислотные остатки 61-101) [1, 2, 22]. Затем на уровне аппарата Гольджи происходит взаимодействие отдельных Cav-1 олигомеров между собой посредством их терминальных участков. Синергичное взаимодействие данных комплексов с ХС приводит к деформации мембраны и формированию кавеол [1]. Кроме того, Cav-1 при взаимодействии с Cav-2 образует очень стабильные гетероолигомеры, которые преимущественно локализируются в ПМ кавеол [23]. В то же время Cav-2 не способен формировать большие гомоолигомерные комплексы, а остается в виде мономера либо димера на уровне аппарата Гольджи, где быстро подвергается протеасомальной деградации [23]. Известно также, что Cav-3 подобно Cav-1 образует гомоолигомерные комплексы [10], однако не взаимодействует с Cav-2 [24].

Хотя интерес к кавеолам и кавеолинам значительно возрос в последние 10 лет, большинство исследований проводилось на культуре клеток. Получение мышей с нокаутом генов кавеолинов позволило выявить значение каждого из них в целом организме и рассматривать этих животных в качестве модели болезней человека. Согласно исследованиям, нокаут Cav-1 и Cav-3 у мышей вызывает полную потерю кавеол в мышечных тканях и в поперечно-полосатой мышечной ткани, а при нокауте Cav-2 кавеолы сохраняются. Причем в Cav-1-дефицитных тканях отмечено снижение экспрессии Cav-2 до 90–95 % [13, 25]. Мыши с нокаутом Cav-1, Cav-2, Cav-3 жизнеспособны, фертильны и на первый взгляд не проявляют явных аномалий [1, 2]. Однако при более детальном гистологическом и функциональном анализе выявляется ряд характерных нарушений. Кроме того, в ходе многочисленных исследований накапливаются доказательства вовлечения кавеолинов в патогенез заболеваний человека, включая рак, сахарный диабет II типа, атеросклероз, мышечные дистрофии [1, 2].

Известно, что кавеолы выполняют транспортную функцию различными путями. Они участвуют в транцитозе — транспорте макромолекул через эндотелий капилляров в интерстициальное пространство [26, 27]. Причем кавеолопосредованный транспорт белков осуществляется значительно быстрее, чем через остальную мембрану [28]. Кроме того, кавеолы участвуют в процессе эндоцитоза. При этом они «отщепляются» от плазмолеммы, образуя кавесомы, и направляются к внутриклеточным органеллам, в частности к ЭР. Доказано, что кавеолы являются преимущественным маршрутом для проникновения в клетку большинства

белков сыворотки (в частности, альбуминов), а также многих вирусов (вирус японского энцефалита, эховирус, энтеровирус и др.), бактерий (кишечная палочка, хламидии и др.) и токсинов (столбнячный, холерный и др.). Инфекционные агенты используют кавеолы для проникновения в клетки, избегая таким образом инактивации в лизосомах [1, 29]. При потоцитозе кавеолы транспортируют небольшие молекулы растворов в клетку, не теряя при этом связи с ПМ [1].

Кавеолы и кавеолы являются важнейшими модуляторами сигнальной трансдукции в клетке [1, 2]. В исследованиях установлено, что большинство кавеол из белков мембраны представлено сигнальными молекулами (например, H-Ras, Src-тирозинкиназы, митогенактивированная протеинкиназа (MAP), аденилатциклаза, эндотелиальная (eNOS) и нейрональная (NO) синтазы и др.) и рецепторами (рецептор эпидермального фактора роста, скавенджер-рецепторы SR-BI и CD36, рецептор инсулина, эндотелина и др.). Причем в кавеолах концентрация этих молекул в несколько раз выше, чем в остальных участках ПМ [2, 24, 30–32]. В связи с этим кавеолы считаются специализированными органеллами клетки — «сигналосомами» [1].

Как указывалось выше, Cav-1 взаимодействует с сигнальными молекулами, модулируя их активность. Причем в большинстве случаев он выполняет роль ингибитора [1, 32]. Вопрос о способности других членов семейства кавеолинов участвовать в сигнальной трансдукции дискутируется. Известно, что CSD-участки Cav-1 и Cav-3 гомологичны, в то время как с CSD Cav-2 они в значительной степени различаются. Это дает основание предполагать, что в мышечной ткани, где селективно экспрессируется Cav-3, он может эффективно выступать в роли модулирующего белка в отсутствие других кавеолинов [30, 33].

Наиболее изученной из сигнальных молекул, действие которых регулируется кавеолином, является eNOS [1]. Локализуясь в кавеолах, она проявляет максимальную ферментативную активность, которая подавляется при взаимодействии CSD Cav-1 с CBD eNOS. Экспериментально установлено, что точковые мутации CBD молекулы eNOS приводят к нарушению ее связывания с кавеолином и сохранению нормального функционирования. Повышение внутриклеточного уровня кальция нарушает CSD/CBD взаимодействие, вызывает активацию eNOS и, как следствие, повышение продукции NO [34, 35] (рис. 3).

Кавеолы и кавеолы играют важную роль в инсулинсигнализации [26, 36]. Впервые их роль

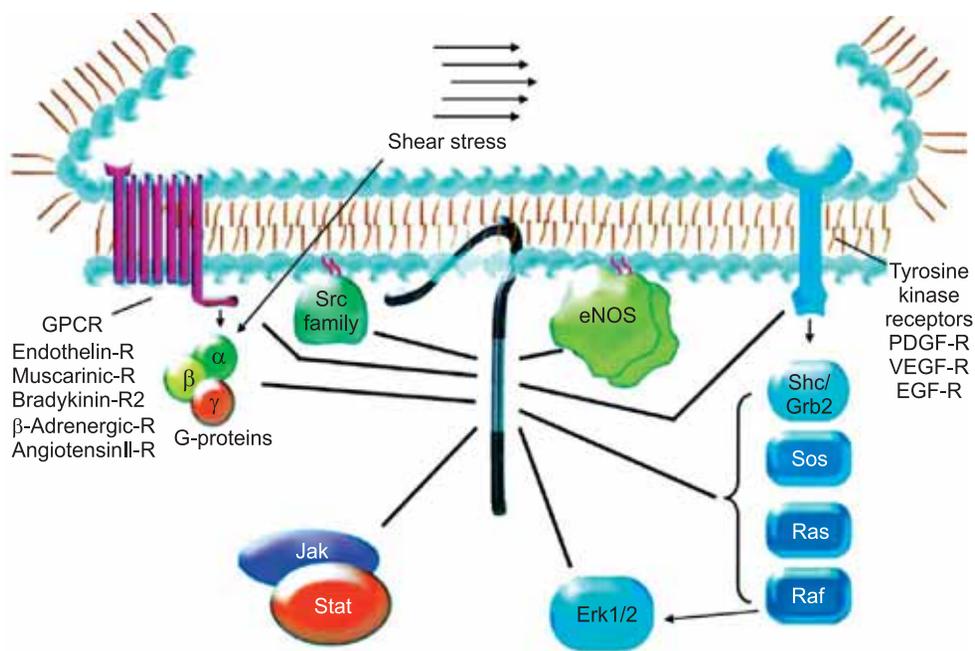


Рис. 3. Регуляция сигнальной функции доменами caveол. G-белок-связанные рецепторы (GPCR), G-белки и рецепторы тирозинкиназы могут находиться в caveолах или вне их. Cav-1 может регулировать функции белков прямо или через Ras-Stat, экстрацеллюлярные сигнальные киназы (Erk) и другие пути. Липидсвязанные белки, как eNOS и семейство Src, могут проникать в caveолы и взаимодействовать с Cav-1 [19]

в энергетическом метаболизме клетки была доказана в исследовании, демонстрирующем высокую концентрацию рецепторов инсулина в caveолах [37]. Известно также, что жировая ткань особо богата caveолами, а в процессе дифференцировки фибробластов (преадипоцитов) в адипоциты наблюдается 25-кратное повышение содержания мРНК и белка Cav-1 [12, 36]. Кроме того, инсулин в адипоцитах стимулирует транслокацию инсулинзависимого транспортера глюкозы GLUT4 в caveолы, где находится основное его количество (около 85 %) [23, 37]. Установлено, что цитоплазматическая часть рецептора инсулина содержит CBD, который способен взаимодействовать с CSD Cav-1 и Cav-3 [30].

Известно также, что воздействие на клетки симвастатина или β-метилциклодекстрина (β-MCD) разрушает caveолы, а в адипоцитах крыс также значительно снижает захват глюкозы. При этом не изменяется количество рецепторов инсулина или их способность взаимодействовать с ним [38, 39].

Наиболее важные наблюдения в понимании взаимосвязи между Cav-1, инсулинорезистентностью и сахарным диабетом (СД) получены у Cav-1-дефицитных мышей [23]. Дефицит Cav-1 проявлялся у них нарушением липидного обмена

на с резистентностью к диетойндуцированному ожирению и прогрессирующей атрофией жировой ткани. При этом уровни инсулина и глюкозы в крови не изменялись [23, 31]. При проведении теста толерантности к инсулину Cav-1-дефицитные мыши проявляли значительное снижение захвата глюкозы по сравнению с контрольными животными. Кроме того, инсулинсигнализация избирательно снижалась в адипоцитах, что связано с уменьшением содержания рецепторов инсулина в жировой ткани почти на 90 %, при этом уровень мРНК не изменялся. Установлено, что Cav-1 предотвращает протеасомальную деградацию рецептора инсулина [23].

Таким образом, Cav-1 играет важную роль в инсулинсигнализации, однако его отсутствие не приводит к фульминантной форме диабета, наблюдаемой у мышей с нокаутом рецептора инсулина, а вызывает умеренную инсулинорезистентность [32].

У пациентов с тяжелой инсулинорезистентностью выявляются мутации caveолинсвязывающего участка рецептора инсулина, которые обуславливают его деградацию в культуре клеток [2]. Таким образом, мутации Cav-1 могут быть причиной инсулинорезистентности у больных СД.

Согласно данным литературы, кавеолы и кавеолы играют важную роль в онкогенезе. В частности, Cav-1 считается опухолевым супрессором, ингибирующим некоторые проонкогены. Фактически, во многих опухолевых клетках определяется снижение активности Cav-1 [40, 41]. Учитывая способность Cav-1 подавлять функции ряда сигнальных молекул, можно предположить аналогичное влияние его и в отношении проонкогенов. Так, в исследованиях показано, что гиперэкспрессия Cav-1 в культуре клеток ингибирует пролиферативные сигналы Ras-p42/44 MAP-киназы [42]. Снижение уровня Cav-1 вызывало гиперактивацию Ras-p42/44 и MAP-киназы с формированием крупных опухолей.

Однако у Cav-1-дефицитных мышей не обнаруживаются спонтанные опухоли, а выявляются признаки гиперпролиферации. Так, эмбриональные фибробласты Cav-1-дефицитных мышей обладают повышенной скоростью деления [2]. Доказано, что гены Cav-1 и Cav-2 локализованы в длинном плече хромосомы 7 (7q31.1). При этом интересен тот факт, что делеция этого локуса связана с патогенезом некоторых типов рака, включая рак молочной железы, простаты, яичника, толстого кишечника и карциному почек [1].

Из литературы известно, что в адипоцитах концентрация кавеол и Cav-1, Cav-2 значительно выше, чем во многих других клетках. Cav-1 считается основным белком, связывающим жирные кислоты в адипоцитах [1, 8]. Cav-1 и Cav-2 являются нормальными компонентами мембраны липидных капель разных типов клеток. При этом содержание Cav-1 в них возрастает при повышении потребления жиров. Считается, что кавеолы и кавеолы участвуют в захвате и транспорте жирных кислот к липидным каплям [43, 44]. Как отмечалось выше, кавеолы – участки плазмолеммы, обогащенные ХС в комплексе с Cav-1. В настоящее время Cav-1 считается одним из немногих белков, способных связывать ХС *in vivo*. Установлено, что в кавеолах на одну молекулу Cav-1 приходится 1–2 молекулы ХС [45]. Такое тесное взаимодействие обуславливает высокую чувствительность Cav-1 к изменениям содержания ХС. Как указывалось выше, воздействие на клетки симвастатина или β -MCD вызывает уменьшение количества кавеол, при этом снижается уровень мРНК Cav-1, что приводит к их уплощению и дезорганизации структуры [32, 46]. В то же время при восстановлении уровня ХС уровень мРНК Cav-1 повышался, что стимулировало формирование кавеол [47]. При воздействии аторвастатина на клетки эндотелия наблюдалось снижение уровня Cav-1 независи-

мо от содержания ХС липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП). Параллельно с этим восстанавливалась или усиливалась активность eNOS. Таким образом, аторвастатин индуцирует продукцию NO, снижая экспрессию Cav-1 в эндотелиоцитах, независимо от уровня внеклеточного ХС ЛПНП [48].

Считается, что синтезированный в клетке ХС использует Cav-1 как «средство доставки» к клеточной мембране [1, 49]. Причем в исследовании E.J. Smart и соавт. (1996) было показано, что ХС способен распределиться в ПМ только после первоначального транспорта к мембране кавеол. Олигомеры Cav-1 образуют комплексы с ХС в ЭР и транспортируют к кавеолам, откуда он выводится из клетки либо встраивается в плазмолемму. При этом Cav-1 возвращается в ЭР, и цикл повторяется [1, 50] (рис. 4). Установлено, что транспорт ХС к мембране в клетках, экспрессирующих кавеолы, в 4 раза быстрее, чем в клетках без кавеолина [50].

Как известно, для поддержания стабильного уровня внутриклеточного ХС клетки выводят его избыток через ПМ в липопротеиды высокой плотности (ЛПВП) для дальнейшего транспорта в печень [51]. В ряде исследований показано, что важная роль в этом принадлежит кавеолярной системе. При повышении внутриклеточного уровня ХС его избыток накапливается в кавеолах, которые выполняют роль «порталов» для вывода ХС из клеток. Отмечено также, что при снижении уровня Cav-1 данный процесс замедляется [51, 52]. Таким образом, Cav-1 участвует в доставке ХС к клеточной мембране и в его дальнейшем выведении из клетки. В настоящее время молекулярные механизмы передачи ХС из кавеол в ЛПВП не известны.

Как указывалось выше, в кавеолах сконцентрированы скавенджер-рецепторы SR-BI (class B type I scavenger receptor) – основной компонент ЛПВП-регулируемого транспорта ХС. Известно, что они участвуют в захвате эфиров ХС из ЛПВП в клетку [53, 54].

Кроме того, CD36 (скавенджер-рецепторы класса В, которые связывают ЛПНП и экспрессируются в эндотелиоцитах, макрофагах и гладкомышечных клетках) локализуется в мембране кавеол и взаимодействуют с Cav-1 [29, 55]. Таким образом, кавеолы и Cav-1 участвуют в захвате и трансцитозе нативных и окисленных ЛПНП [56]. Как показали исследования, Cav-1 необходим для нормального функционирования CD36. Так, в его отсутствие экспрессия CD36 снижалась на 85–90 %, а при восстановлении уровня Cav-1 – повышалась в несколько раз [29].

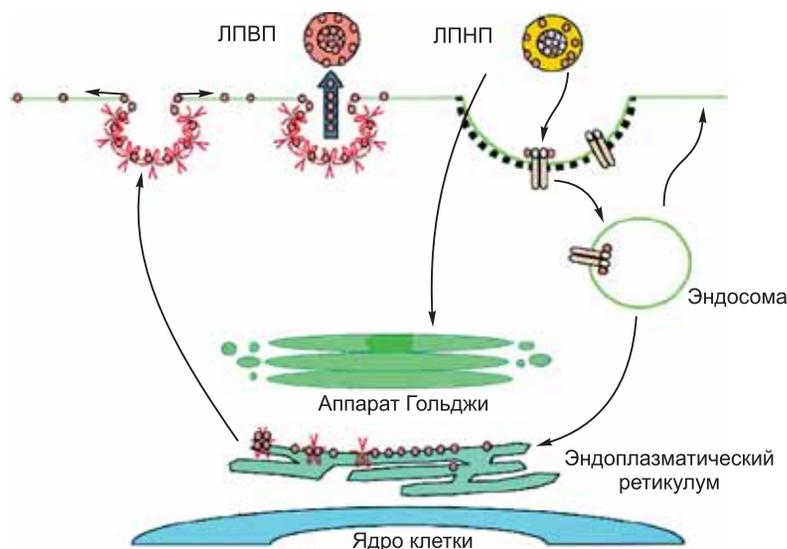


Рис. 4. Роль Cav-1 в транспорте ХС [1]. Внутриклеточный свободный ХС распределяется между ЛПНП через рецептор-опосредуемый эндоцитозом или накоплением в мембране, а также синтезом *de novo*. Cav-1 может прикреплять ХС к эндоплазматическому ретикулуму (ЭПР) и транспортировать к кавеоле плазматической мембраны (для удаления в составе ЛПВП). Cav-1 может возвращаться в ЭПР, комплекс Гольджи и повторять транспортный цикл

Нарушения липидного гомеостаза у Cav-1-дефицитных мышей указывают на его роль в патогенезе метаболических болезней человека. У Cav-1-дефицитных мышей наблюдаются постпрандиальная гипертриглицеридемия, повышенные уровни свободных жирных кислот, липопротеидов очень низкой плотности и хиломикронов. При этом уровень свободного ХС в плазме остается нормальным. Как указывалось выше, у них выявляются уменьшение диаметра адипоцитов, атрофия подкожной жировой клетчатки и резистентность к диетуиндуцированному ожирению [2, 29, 39].

С современных позиций Cav-1 придается большое значение в патогенезе атеросклероза [29, 57]. В исследовании P.G. Frank et al. (2004) был продемонстрирован особенный эффект дефицита Cav-1. Cav-1-дефицитных мышей скрестили с аполипопротеин Е-дефицитными (apoE(-)) мышами для получения мышей с двойным нокаутом генов (apoE(-)/Cav-1(-)) [32]. Хотя у Cav-1-дефицитных мышей уровень ХС в плазме был нормален, у apoE(-)/Cav-1(-) мышей содержание ХС в два раза превышало норму. Однако отсутствие Cav-1 предотвращало «проатерогенное» влияние гиперхолестеринемии. Так, у мышей ApoE(-)/Cav-1(-) области атеросклеротических поражений аорты были на ~70 % меньше в сравнении с apoE-дефицитными мышами (рис. 5).

Полученные результаты авторы связывают со снижением экспрессии проатерогенных молекул клеточной адгезии VCAM-1 (vascular cellular adhesion molecule-1) и CD36 у мышей с отсутствием Cav-1. Считается, что VCAM-1 играют важную роль в атерогенезе. Они способствуют адгезии моноцитов и их миграции в эндотелий сосудов [58]. Как показало исследование, активация eNOS, наблюдаемая при дефиците Cav-1, приводила к снижению уровня VCAM-1 до 90 % [29].

У Cav-1-дефицитных мышей развивается гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМ) с прогрессирующей концентрирующей гипертрофией левого желудочка и дилатацией правого [2, 59]. При этом в ткани желудочков выявляются зоны некроза миоцитов, интерстициального воспаления и фиброза. Эти патологические нарушения сопровождаются гиперактивацией каскада p42/44 MAP-киназы в кардиальных фибробластах [59].

В литературе имеются данные о роли Cav-1 в ангиогенезе. Доказано, что экспрессия Cav-1 положительно коррелирует с формированием капилляров. Рост сосудов у Cav-1-дефицитных мышей значительно отстает в сравнении с мышами дикого типа [2]. Cav-1 экспрессируется в эпителии дистальных извитых канальцев почек, при этом у Cav-1-дефицитных мышей значительно нарушена реабсорбция кальция, что при-

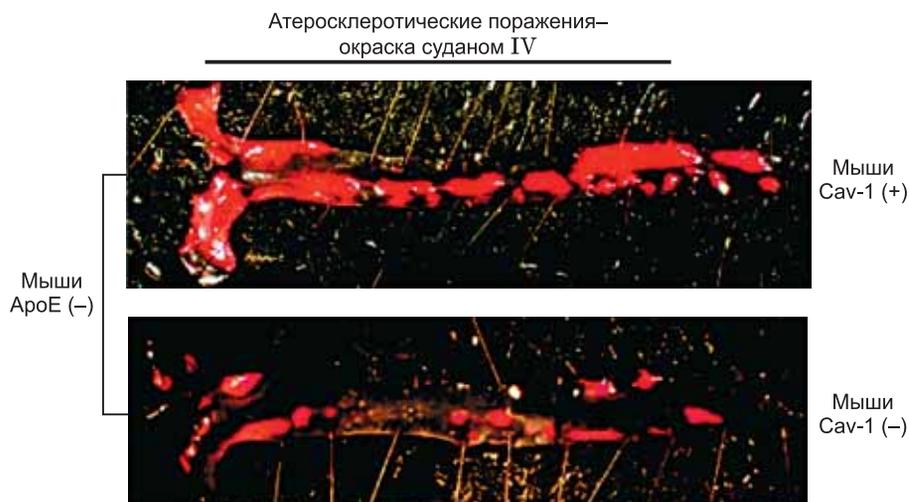


Рис. 5. Аорта: роль потери Cav-1 в атеропротекции [32]. Окисленные ЛПНП захватываются рецепторами кавеол CD36, взаимодействующими с Cav-1. Мышей Cav-1 (-/-) скрестили с аполипопротеин E-нулевыми (apoE) мышами для получения мышей с apoE/Cav-1. Отсутствие Cav-1 предотвращает «проатерогенное» влияние гиперхолестеринемии. У мышей apoE/Cav-1 на 70 % меньше области атеросклеротических поражений в сравнении с apoE-нулевыми мышами. Эти изменения могут быть связаны с изменениями уровней CD36 и VCAM-1, что влияет на рекрутирование и миграцию моноцитов/макрофагов в зону повреждения эндотелия, а также на снижение захвата и депозиции липопротеинов

водит к гиперкальциурии и уролитиазу [60]. При дефиците Cav-1 и Cav-2 у мышей наблюдаются схожие изменения в легких в виде гиперпролиферации эндотелиоцитов, утолщения альвеолярных перегородок, уменьшения диаметра альвеол, фиброза. При этом отмечается значительное снижение толерантности к физической нагрузке [61]. В развитии этих нарушений особое значение придается Cav-2. Наблюдаемые аномалии подобны интерстициальным болезням легких, в связи с чем мыши с дефицитом Cav-2 могут служить моделью для их изучения. Продолжительность жизни Cav-1-дефицитных мышей на ~50 % меньше, чем у мышей дикого типа, в то же время гетерозиготные мыши с дефектом гена Cav-1 живут столько же, сколько мыши дикого типа. Главной причиной смерти являются легочной фиброз и гипертрофия сердца [2].

Как отмечалось выше, Cav-3 экспрессируется исключительно в мышечной ткани и необходим для формирования кавеол в скелетных мышцах. Установлено также, что в клетках скелетной мускулатуры кавеолы и Cav-3 выполняют, кроме вышеперечисленных, специфическую функцию — участвуют в формировании системы Т-трубочек. Считается, что она образуется в результате слияния множества кавеол [1, 62]. В исследованиях установлена связь мутаций Cav-3 с заболеваниями мышц — дистальной миопатией, идиопатической гиперкреатинкиназемией, пуль-

сирующей болезнью мышц [1, 2]. Общим для этих заболеваний являются значительное (до 95 %) снижение экспрессии Cav-3 в мышечной ткани и потеря сарколеммных кавеол [62, 63]. Гистологический анализ скелетных мышц Cav-3-дефицитных мышей выявил умеренные миопатические изменения — незрелость, различную величину, некроз мышечных волокон, инфильтрацию мышц. Кроме того, у них система Т-трубочек дезорганизована в виде аномально ориентированных трубочек [62]. У мышей с дефицитом Cav-3 развивается кардиомиопатия, подобная наблюдаемой при дефиците Cav-1. В сердце Cav-3-дефицитных мышей развиваются периваскулярный фиброз, гипертрофия миоцитов и клеточная инфильтрация. Эти изменения обусловлены гиперактивацией каскада Ras-p42/44 MAP-киназы в кардиомиоцитах [64]. При скрининге пациентов с гипертрофическими и дилатирующими кардиомиопатиями была выявлена связь мутации Cav-3 (T63S) с ГКМ [2].

Таким образом, в последние годы кавеолы и кавеолыны являются объектом активного изучения в связи с их непосредственным участием в ряде важнейших функций клеток организма. В многочисленных исследованиях показано, что они вовлечены в патогенез серьезных метаболических нарушений. Считается, что мутации в генах кавеолинов могут определять развитие целого ряда заболеваний. Дальнейшим шагом

в изучении роли кавеол и кавеолинов в патогенезе болезней человека являются поиск этих мутаций и установление их связи с развитием таких заболеваний, как кардиомиопатия, сахарный диабет, рак, атеросклероз. Представляется перспективным изучение возможности использования кавеолинов в качестве объектов для фармакологического воздействия с терапевтической целью.

ЛИТЕРАТУРА

- Razani B., Woodman S.E., Lisanti M.P. Caveolae: From Cell Biology to Animal Physiology // *Pharmacol. Rev.* 2002. Vol. 54. P. 431–467.
- Cohen A.W., Hnasko R., Schubert W., Lisanti M.P. Role of caveolae and caveolins in health and disease // *Physiol. Rev.* 2004. Vol. 84. P. 1341–1379.
- Frank P.G., Lee H., Park D.S. et al. Genetic ablation of caveolin-1 confers protection against atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004. Vol. 24. P. 98–105.
- Palade G.E. Fine structure of blood capillaries // *J. Appl. Physiol.* 1953. Vol. 24. P. 1424.
- Yamada E. The fine structure of the gall bladder epithelium of the mouse // *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1955. Vol. 1, N 5. P. 445–458.
- Gil J. Number and distribution of plasmalemmal vesicles in the lung // *Fed. Proc.* 1983. Vol. 42. P. 2414–2418.
- Cameron P.L., Ruffin J.W., Bollag R. et al. Identification of caveolin and caveolin-related proteins in the brain // *J. Neurosci.* 1997. Vol. 17. P. 9520–9535.
- Scherer P.E., Lisanti M.P., Baldini G. et al. Induction of caveolin during adipogenesis and association of GLUT4 with caveolin-rich vesicles // *J. Cell. Biol.* 1994. Vol. 127. P. 1233–1243.
- Okamoto T., Schlegel A., Scherer P.E., Lisanti M.P. Caveolins, a family of scaffolding proteins for organizing «preassembled signaling complexes» at the plasma membrane // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 5419–5422.
- Tang Z.L., Scherer P.E., Okamoto T. et al. Molecular cloning of caveolin-3, a novel member of the caveolin gene family expressed predominantly in muscle // *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271. P. 2255–2261.
- Drab M., Verkade P., Elger M. et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice // *Science (Wash DC)*. 2001. Vol. 293. P. 2449–2452.
- Razani B., Engelman J.A., Wang X.B. et al. Caveolin-1 null mice are viable, but show evidence of hyperproliferative and vascular abnormalities // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 38121–38138.
- Razani B., Wang X.B., Engelman J.A. et al. Caveolin-2-deficient mice show evidence of severe pulmonary dysfunction without disruption of caveolae // *Mol. Cell. Biol.* 2002. Vol. 22. P. 2329–2344.
- Li S., Galbiati F., Volonte D. et al. Mutational analysis of caveolin-induced vesicle formation. Expression of caveolin-1 recruits caveolin-2 to caveolae membranes // *FEBS Lett.* 1998. Vol. 434. P. 127–134.
- Liu J., Lee P., Galbiati F., Kitsis R.N., Lisanti M.P. Caveolin-1 expression sensitizes fibroblastic and epithelial cells to apoptotic stimulation // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2001. Vol. 280. P. 823–835.
- Scherer P.E., Okamoto T., Chun M. et al. Identification, sequence and expression of caveolin-2 defines a caveolin gene family // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1996. Vol. 93. P. 131–135.
- Kurzchalia T., Dupree P., Parton R.G. et al. VIP 21, A 21-kD membrane protein is an integral component of trans-Golgi-network-derived transport vesicles // *J. Cell. Biol.* 1992. Vol. 118. P. 1003–1014.
- Sargiacomo M., Scherer P.E., Tang Z.L. et al. Oligomeric structure of caveolin: implications for caveolae membrane organization // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1995. Vol. 92. P. 9407–9411.
- Gratton J-P., Bernatchez P., Sessa W.C. Caveolae and Caveolins in the Cardiovascular System // *Circulation Research.* 2004. Vol. 94. P. 1408.
- Lisanti M.P., Scherer P.E., Vidugiriene J. et al. Characterization of caveolin-rich membrane domains isolated from an endothelial-rich source: Implications for human disease // *J. Cell. Biol.* 1994. Vol. 126. P. 111–126.
- Segal S.S., Brett S.E., Sessa W.C. Codistribution of NOS and caveolin throughout peripheral vasculature and skeletal muscle of hamsters // *Am. J. Physiol.* 1999. Vol. 277. P. 1167–1177.
- Mora R., Bonilha V.L., Marmorstein A. et al. Caveolin-2 localizes to the golgi complex but redistributes to plasma membrane, caveolae and rafts when co-expressed with caveolin-1 // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 25708–25717.
- Cohen A.W., Combs T.P., Scherer P.E., Lisanti M.P. Role of caveolin and caveolae in insulin signaling and diabetes // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003. Vol. 285. P. E1151–E1160.
- Das K., Lewis R.Y., Scherer P.E. et al. The membrane spanning domains of caveolins 1 and 2 mediate the formation of caveolin hetero-oligomers. Implications for the assembly of caveolae membranes *in vivo* // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 18721–18728.
- Drab M., Verkade P., Elger M. et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice // *Science (Wash DC)*. 2001. Vol. 293. P. 2449–2452.
- Ghitescu L., Fixman A., Simionescu M. et al. Specific binding sites for albumin restricted to plasmalemmal vesicles of continuous capillary endothelium: receptor-mediated transcytosis // *J. Cell. Biol.* 1986. Vol. 102. P. 1304–1311.
- Simionescu N., Simionescu M., Palade G.E. Permeability of muscle capillaries to small heme-peptides: evidence for the existence of patent transendothelial channels // *J. Cell. Biol.* 1975. Vol. 64. P. 586–607.
- Schnitzer J.E. Caveolae: from basic trafficking mechanisms to targeting transcytosis for tissue-specific drug and gene delivery *in vivo* // *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2001. Vol. 49. P. 265–280.
- Schubert W., Frank P.G., Razani B. et al. Caveolae-deficient endothelial cells show defects in the uptake and transport of albumin *in vivo* // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276. P. 48619–48622.

30. Yamamoto M., Toya Y., Schwencke C. et al. Caveolin is an activator of insulin receptor signaling // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 26962–26968.
31. Bluher M., Michael M.D., Peroni O.D. et al. Adipose tissue selective insulin receptor knockout protects against obesity and obesity-related glucose intolerance // *Dev. Cell.* 2002. Vol. 3. P. 25–38.
32. Frank P.G., Lee H., Park D.S. et al. Genetic ablation of caveolin-1 confers protection against atherosclerosis // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004. Vol. 24. P. 98–105.
33. Razani B., Rubin C.S., Lisanti M.P. Regulation of cAMP-mediated signal transduction via interaction of caveolins with the catalytic subunit of protein kinase A // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 26353–26360.
34. Garcia-Cardena G., Martasek P., Siler-Masters B.S. et al. Dissecting the interaction between nitric oxide synthase (NOS) and caveolin: functional significance of the NOS caveolin binding domain *in vivo* // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 25437–25440.
35. Behrendt D., Ganz P. Endothelial function: from vascular biology to clinical applications // *Am. J. Cardiol.* 2002. Vol. 90. P. 40–48.
36. Gustavsson J., Parpal S., Karlsson M. et al. Localization of the insulin receptor in caveolae of adipocyte plasma membrane // *FASEB J.* 1999. Vol. 13. P. 1961–1971.
37. Corely-Mastick C., Saltiel A.R. Insulin-stimulated tyrosine phosphorylation of caveolin is specific for the differentiated adipocyte phenotype in 3T3-L1 cells // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 20706–20714.
38. Gustavsson J., Parpal S., Karlsson M. et al. Localization of the insulin receptor in caveolae of adipocyte plasma membrane // *FASEB J.* 1999. Vol. 13. P. 1961–1971.
39. Razani B., Combs T.P., Wang X.B. et al. Caveolin-1-deficient mice are lean, resistant to diet-induced obesity, and show hypertriglyceridemia with adipocyte abnormalities // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 8635–8647.
40. Engelman J.A., Wycoff C.C., Yasuhara S. et al. Recombinant expression of caveolin-1 in oncogenically transformed cells abrogates anchorage-independent growth // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 16374–16381.
41. Razani B., Schlegel A., Lisanti M.P. Caveolin proteins in signaling, oncogenic transformation and muscular dystrophy // *J. Cell. Sci.* 2000. Vol. 113. P. 2103–2109.
42. Engelman J.A., Chu C., Lin A. et al. Caveolin-mediated regulation of signaling along the p42/44 MAP kinase cascade *in vivo*. A role for the caveolin-scaffolding domain // *FEBS Lett.* 1998. Vol. 428. P. 205–211.
43. Pol A., Luetterforst R., Lindsay M. et al. A caveolin dominant negative mutant associates with lipid bodies and induces intracellular cholesterol imbalance // *J. Cell. Biol.* 2001. Vol. 152. P. 1057–1070.
44. Liu P., Ying Y., Zhao Y. et al. Chinese hamster ovary K2 cell lipid droplets appear to be metabolic organelles involved in membrane traffic // *J. Biol. Chem.* 2004. Vol. 279. P. 3787–3792.
45. Murata M., Peranen J., Schreiner R. et al. VIP21/caveolin is a cholesterol-binding protein // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1995. Vol. 92. P. 10339–10343.
46. Hailstones D., Sleer L.S., Parton R.G., Stanley K.K. Regulation of caveolin and caveolae by cholesterol in MDCK cells // *J. Lipid. Res.* 1998. Vol. 39. P. 369–379.
47. Fielding C.J., Bist A., Fielding P.E. Caveolin mRNA levels are up-regulated by free cholesterol and down-regulated by oxysterols in fibroblast monolayers // *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 1997. Vol. 94. P. 3753–3758.
48. Feron O., Dessy C., Desager J.P. et al. Hydroxymethylglutaryl-coenzyme a reductase inhibition promotes endothelial nitric oxide synthase activation through a decrease in caveolin abundance // *Circulation.* 2001. Vol. 103 (Abstract).
49. Uittenbogaard A., Smart E.J. Palmitoylation of caveolin-1 is required for cholesterol binding, chaperone complex formation and rapid transport of cholesterol to caveolae // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 25595–25599.
50. Smart E.J., Ying Y.S., Donzell W.C. et al. A role for caveolin in transport of cholesterol from endoplasmic reticulum to plasma membrane // *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271. P. 29427–29435.
51. Fielding C.J., Fielding P.E. Intracellular cholesterol transport // *J. Lipid. Res.* 1997. Vol. 38. P. 1503–1521.
52. Fielding C.J., Fielding P.E. Cholesterol and caveolae: structural and functional relationships // *Biochim. Biophys. Acta.* 2000. Vol. 1529. P. 210–222.
53. Babitt J., Trigatti B., Rigotti A. et al. Murine SR-BI, a high density lipoprotein receptor that mediates selective lipid uptake, is N-glycosylated and fatty acylated and colocalizes with plasma membrane caveolae // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272. P. 13242–13249.
54. Graf G.A., Connell P.M., van der Westhuyzen D.R. et al. The class B, type I scavenger receptor promotes the selective uptake of high density lipoprotein cholesterol esters into caveolae // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274. P. 12043–12048.
55. Frank P.G., Marcel Y.L., Connelly M.A. et al. Stabilization of caveolin-1 by cellular cholesterol and scavenger receptor class B type I // *Biochemistry.* 2002. Vol. 41. P. 11931–11940.
56. Kim M.J., Dawes J., Jessup W. Transendothelial transport of modified low-density lipoproteins // *Atherosclerosis.* 1994. Vol. 108. P. 5–17.
57. Frank P.G., Woodman S.E., Park D.S., Lisanti M.P. Caveolin, caveolae, and endothelial cell function // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003. Vol. 23. P. 1161–1168.
58. Cybulsky M.I., Iiyama K., Li H. et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis // *J. Clin. Invest.* 2001. Vol. 107. P. 1255–1262.
59. Cohen A.W., Park D.S., Woodman S.E. et al. Caveolin-1 null mice develop cardiac hypertrophy with hyperactivation of p42/44 MAP kinase in cardiac fibroblasts // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2003. Vol. 284. P. C457–C474.
60. Cao G., Yang G., Timme T.L. et al. Disruption of the caveolin-1 gene impairs renal calcium reabsorption and leads to hypercalciuria and urolithiasis // *Am. J. Pathol.* 2003. Vol. 162. P. 1241–1248.
61. Drab M., Verkade P., Elger M. et al. Loss of caveolae, vascular dysfunction and pulmonary defects

- in caveolin-1 gene-disrupted mice // Science (Wash DC). 2001. Vol. 293. P. 2449–2452.
62. **Galbiati F., Engelman J.A., Volonte D. et al.** Caveolin-3 null mice show a loss of caveolae, changes in the microdomain distribution of the dystrophin-glycoprotein complex, and T-tubule abnormalities // J. Biol. Chem. 2001. Vol. 276. P. 21425–21433.
63. **Minetti C., Bado M., Broda P. et al.** Impairment of caveolae formation and T-system disorganization in human muscular dystrophy with caveolin-3 deficiency // Am. J. Pathol. 2002. Vol. 160. P. 265–270.
64. **Woodman S.E., Park D.S., Cohen A.W. et al.** Caveolin-3 knock-out mice develop a progressive cardiomyopathy and show hyperactivation of the p42/44 MAPK cascade // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 38988–38997.

CELL ASPECTS OF CHRONIC NONINFECTIOUS DISEASES PATHOGENESIS

Yu.P. Nikitin¹, E.N. Vorobyova^{2,3}, G.I. Simonova^{1,3}, R.I. Vorobyov³, A.S. Kazzyaeva²

¹*Research Institute of therapy Internal and preventive medicine SB RAMS,
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

²*Altai State Medical University
656049, Barnaul, Lenin str., 40*

³*Altai laboratory of epidemiology, prognosis and prevention of Research Institute of therapy,
656049, Barnaul, Lenin str., 40*

Caveolae are plasma membrane invaginations of the majority of differentiated cells. They are especially abundant in endothelial cells, adipocytes, muscle cells, and fibroblasts. Caveolae membrane is enriched in cholesterol, sphingolipids, and their principal structural protein component caveolins (1, 2, and 3). In numerous studies caveolae and caveolins important role in a variety of cellular functions including endocytic processes, lipid homeostasis, signal transduction, and tumor suppression was demonstrated. Generation of caveolindeficient mice allowed to analyze functions of caveolae and caveolins with respect to human physiology. In the recent years evidences of caveolins implicating in the pathogenesis of human diseases, including atherosclerosis, diabetes type 2, cancer, muscular dystrophies are accumulated. In a review the role of caveolae and caveolins in health and disease is described.

Key words: atherosclerosis, caveolae, caveolin-1, plasma membrane.

Статья поступила 6 марта 2014 г.