

Г.В. Сукоян

Сигнаლოსомы, строение, функция и дисфункция

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»
Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Образование сигнаლოსом — важный механизм компартиментализации сигнальных путей в сложном механизме сигнальной трансдукции клетки и развитии порочных кругов поддержания и прогрессирования заболеваний. Белки, образующие платформы для построения сигнаლოსом, выполняют важную регуляторную роль в различных сигнальных путях, хотя прямо не принимают участие в выполнении функции, они взаимодействуют и/или связываются со множеством сигнальных путей, организуя их в комплексы и тем самым регулируют передачу сигнала и помогают локализации компонентов (компартиментализации) данного пути в специальной области клетки, например, плазматической мембране, цитоплазме, или ядре, комплексе Гольджи, эндосоме, Мх. Это приводит к переходной, но благоприятной ориентации отдельных молекул в пределах комплекса, позволяя быстрое взаимодействие с дополнительными компонентами. Сигнаლოსомы могут играть роль контролирующей систем совершения биологической работы и способности придания баланса между эффективностью, надежностью и способностью к развитию, позитивную и негативную обратную связь событий, синергетический или подавляющий механизм, составлять инструментарий клеточной биологии и патофизиологии.

Ключевые слова: сигнаლოსомы, сигнальные пути клетки, клеточная биология, клеточная патофизиологии

G.V. Sukoyan

Signalosome as therapeutic targets

Institute of general pathology and pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

The proteins forming platforms for construction signalosome carry out a important regulatory role in various signal transduction pathways though directly don't take part in a function performance, they interact and/or connect with set of signaling pathways, integrate them in complexes and by that regulate a signal transduction and help for location of components a definite pathway in the special region of cell, for example, in sarcoplasm, cytoplasm or nuclea, in complex Goldji, endosome, mitochondria. Formation a signalosome is the important mechanism of compartmentalization signaling pathways in the complex mechanism of transduction of a cell and development of vicious circles of maintenance and progressing of diseases. All of this lead to transition but beneficial orientation of individual molecules in the complex frame, permit fast interaction with additional component. Signalosomes may to play a role of control system of fulfillment biological function and ability to maintenance a balance between efficiency, ability and development, positive and negative feedback connection of events, synergic or depress mechanism, to consist tools for cell biology and pathophysiology.

Key words: signalosome, signaling pathways, cell biology, cellular pathophysiology

Стремительное развитие фундаментальной науки, картирование генома клетки и развитие протеомики, достижения в понимании механизмов внутриклеточной передачи сигналов и регуляции клеточного цикла, предопределило появление в клинической практике препаратов с молекулярно-целенаправленным механизмом действия, в основе которого лежит трансформация (деремоделирование) патогенетической мишени заболевания — «таргетная» терапия [7, 11, 61]. Достижение прогресса в создании препаратов целенаправленного действия для лечения основных социально-значимых заболеваний неразрывно связано с пониманием регуляции

многочисленных сигнальных путей, модулей и каскадов, и определения ключевых сигнал-детектирующих и сигнал-передающих сигнальных молекул¹ [9, 66]. Многочисленные элементы сигнальных путей пре- и пост-кондиционирования, поддержания и прогрессирования сердечной недостаточности, нарушения синаптической пластичности и нейродегенеративных заболеваний, дисфунк-

¹ К сигнальным молекулам относятся вещества полярной (гормоны, нейромедиаторы, факторы роста, цитокины, эйкозаноиды и неполярной (стероидные гормоны, способные в отличие от полярных, проникать в клетку, проходя через липидный бислой мембран) структуры и внутриклеточные сигнальные мессенджеры (цАМФ, Ca²⁺ и Ca²⁺-мобилизуемые мессенджеры, липидные мессенджеры, керамиды, мессенджеры протеинкиназ, активные киназы, передающие информацию в клетку, ядро). Из более чем 1 млрд белковых молекул клеток млекопитающих более 10% вовлечены в сигнальную трансдукцию.

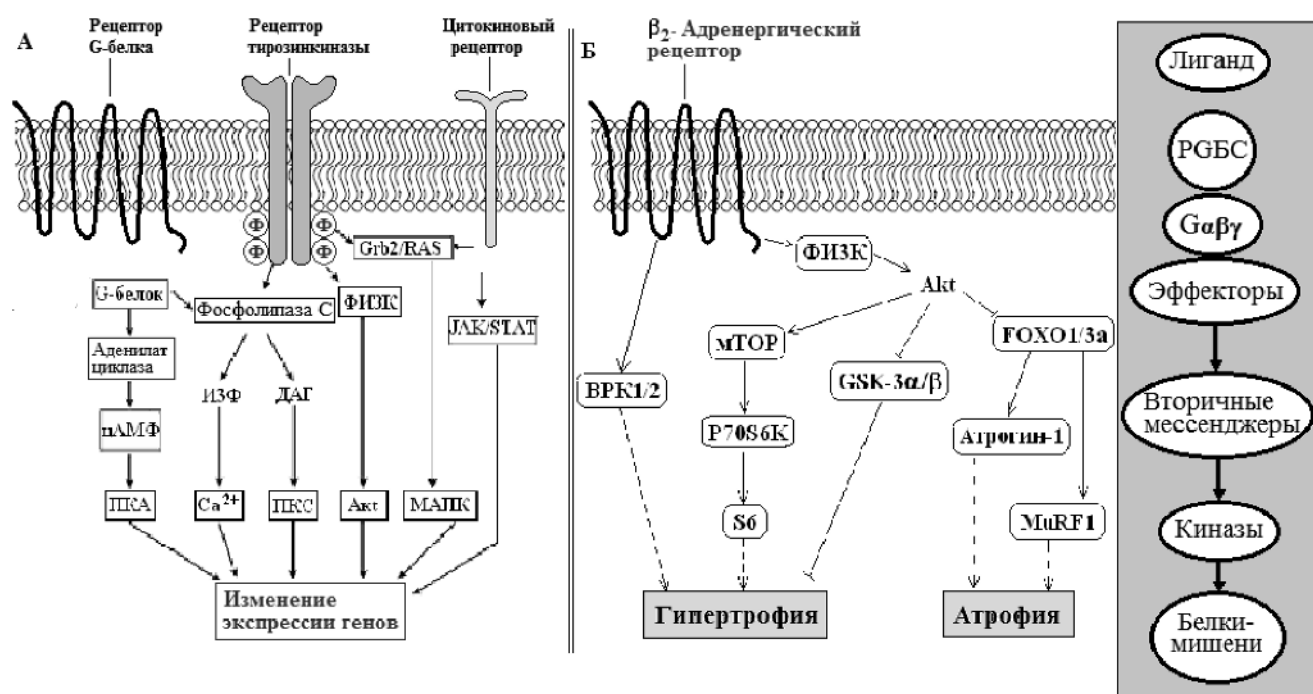


Рис. 1. Сигнальная трансдукция, приводящая через ряд последовательных сигнальных каскадов к экспрессии генов [38] и перекликанье сигнальных каскадов β_2 -адренорецептора и фосфатидилинозит-3-киназный-протеникиназа В (Akt) сигнального пути *in vivo* [38, 66]. Активация сигнального пути регулируемой внутриклеточной киназой (ВРК-ERK) и сигнальной оси каскада пролиферации (мишени рифампицина млекопитающих (mTOR)/P70S6K/S6 (протеасомо-рибосомальные киназы) ведет к прогрессированию гипертрофии сердца. Норадреналин может также активировать β_2 - и β_3 -адренорецепторы, играющих важную роль в регуляции сердечной деятельности. В то же время активация Akt ведет к фосфорилированию гликогенсинтазы $3\alpha/\beta$ и тем самым ингибирует прогрессирование гипертрофии. Akt индуцирует фосфорилирование FOXO (транскрипционный фактор семейства forkhead) 1/3a и ингибирует его активность, что негативно сказывается на активности атрогина-1 и мышечного up-regulation фактора транскрипции (MuRF-1), что в результате снижает скорость распада белков (атрофия). PKA и PKC – протеинкиназа А и С соответственно. РГБС – рецепторы, сопряженные с G-белком; DAG – диацилглицерол; MAPK – митоген-активируемая протеинкиназа; Grb2- 2 белок, связанный с рецептором фактора роста; RAS – мономерные мембраносвязанные G-белки, работающие как ГТФазы; JAK-STAT – янус киназа (тирозинная киназа); фосфорилирующие STAT-факторы (трансдукторы и активаторы сигнала транскрипции). Стрелка – повышение; \perp – ингибирование; сплошные линии – подтвержденные механизмы; пунктирные линии – гипотетические.

кции иммунной и бронхолегочной систем в настоящее время рассматриваются в качестве основных мишеней целенаправленной терапии [30]. Проблема осложняется тем, что в большинстве случаев процесс активации какого-либо метаболического процесса находится под контролем не одной, а нескольких систем внутриклеточной сигнализации, поэтому важным фактором ответа клеток служит взаимосвязь и так называемое перекликанье («crosstalk»²) этих систем (рис. 1А и Б).

Согласно классической теории, сигнальные молекулы и сигнальные рецепторы могут иметь разное строение и происхождение, однако все они работают по единому механизму. Связываясь со своим специфическим рецептором по принципу «ключ к замку», вызывают структурно-конформационные и биохимические изменения вдали от своего местоположения в

клетке. В результате сигнал извне клетки передается на внутриклеточную часть молекулы рецептора и запускает последовательный перенос сигнала от одной, внутриклеточной молекулы-передатчика к другой. Вне зависимости от того, на какую часть рецептора воздействуют препараты (антитела — на внеклеточный домен, малые молекулы — на рецепторные внутриклеточные киназы), рецептор является дистальным по отношению к геному, «узкой» частью сигнального пути и практически никогда не является непосредственным передатчиком пролиферативного или другого сигнала к геному клетки (рис. 1). Непосредственно взаимодействующими с определенными генами для срабатывания генетической программы, запущенной сигналом с рецептора (пролиферация, инвазия, ангиогенез, адгезия и т.д.), служат молекулы, находящиеся в конце сигнального пути. В большинстве клеток существуют дублирующие сигнальные пути, которые могут быть активированы конституционально — постоянно (при блокаде одного из сигнальных путей второй уже «готов» взять на себя его функции) или

² Crosstalk — тип интеграционного процесса, при котором индивидуальные ферменты получают сигналы от нескольких путей, основной сигнальный путь испытывает влияние со стороны другого, даже если этот второй путь не может полностью контролировать первый.

индукционно, по принципу обратной связи (начинают работать через некоторое время после начала блокады основного пути). Таким образом, передача сигнала от рецептора в плазматической мембране к ядру происходит путем диффузии компонентов цепи в цитозоле, а интернализация рецептора (его перемещение из мембраны внутрь клетки) является способом снижения его концентрации в плазматической мембране, способом тушения сигнала (что и происходит во многих случаях при транспорте рецепторов в лизосомы) [18]. Потенциально рецептор, может активировать большое количество молекул-лигандов, обеспечивая, таким образом, высокий коэффициент усиления внеклеточного сигнала [52]. Потребление в каскаде макроэргических соединений делает невозможным обращение цепи реакций или «смешивание» разных сигналов. Так, например, использование фосфодиэстеразой (ФДЭ) макроэргического субстрата цАМФ исключает возможность синтеза цАМФ из немакроэргического АМФ, а, следовательно, включение ферментного каскада повышающего концентрацию АМФ.

Структура и функция сигналомом

Динамическое образование больших мультимолекулярных сигнальных комплексов в процессе изменения локализации и внутриклеточного движения макромолекул³, подтвержденное экспериментально при различных внутриклеточных процессах [5, 10, 13, 15, 41, 42, 45, 48, 53, 58, 62, 65], имеет огромное значение для повышения эффективности передачи сигнала, обеспечения специфичности и повышения чувствительности [11, 54, 55, 65], стратегии компартментализации сигнальных комплексов в пространстве, секвестирования компонентов сигнального комплекса из остального пространства внутри клетки или в межклеточной жидкости [36, 48]. Процессы диффузии существенны для распространения информации внутри «открытого пространства», но они совершенно неэффективны и не могут обеспечить пропускную способность, чтобы быть

главной движущей силой огромного числа макромолекулярных взаимодействий в клетках [17]. Взаимодействие двух и более макромолекул претерпевает трехмерное свободное движение («random walk»), диффузию в открытом пространстве и зависит от концентрации и способности макромолекул к быстрому перемещению на большие расстояния [13]. По классической теории, при свободной диффузии в растворе, вероятность достижения мишени резко убывает с увеличением расстояния [36]. Более того, оказалось, что коэффициент диффузии для малых белков равен $5 \times 10^{-7} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$ в свободном пространстве, а в липидном бислое мембран $5 \times 10^{-9} \text{ см}^2 \text{ с}^{-1}$ [11]. Взаимодействие между свободно-диффундирующими малыми молекулами (субстратами, в микромолекулярных концентрациях в клетке) и ферментами (белками, метаболитами) менее подвержены влиянию внутриклеточной скученности ввиду большой разницы в размерах растворенного вещества и «скопления» [66, 54]. Цитозольные белки экстенсивно гидратируются и структурная организация связанной воды приводит к фазовой сепарации структур от остального объема цитозоля. Миниализация фазовой границы, со своей стороны, вызывает соединение белков внутри их общей гидративной фазы. Если белки сигнального пути являются случайной распределенными в цитозоле, они также соединяются внутри в жидкостной фазе с потерей направленности и специфичности [11, 15]. Например, базальная концентрация цАМФ в основном объеме («bulk») цитоплазме кардиомиоцитов желудочков $\sim 1 \text{ мкМоль}$, что на порядок превышает уровень в $\sim 100 \text{ нМоль}$ определенный в кавеоларных доменах с использованием протеинкиназа А (ПКА)-сенсоров [33, 37]. Было высказано предположение, что сигнальный каскад компартментализируется для осуществления метаболического каналирования, что в целом представляет собой взаимодействие с образованием белковых комплексов и их движения через цитозоль, как самостоятельной единицы. Сужение реакционного пространства и, компартментализация сигнальных путей становятся энергетически выгодными. Внутриклеточные структуры, например, комплекс Гольджи, саркоплазматический ретикулум (СР) и митохондрии (Мх), в результате могут функционировать как единые переходные зоны для молекул, передающих сигнал [61]. Таким образом, компартментализация играет важную роль даже в условиях покоя для поддержания уровня сигнальных молекул, например, концентрация цАМФ в микродоменах (локально) значительно ниже, чем в основном объеме цитоплазмы клетки и тем самым рецептор-сигнальные механизмы модулируют активность цАМФ в интервале, который характерен для работы высокоаффинных эффекторов, таких, как ПКА II с константой диссоциации (Кд) порядка 300 нМ [35, 37].

³ К данным методическим подходам относятся: усовершенствование методов конфокальной лазерной сканирующей и флуоресцентной микроскопии, криоэлектронной томографии для визуализации внутриклеточных структуры с разрешением до 4—5 нм, методы микроскопии с вычислительным анализом для воссоздания полного и всеобъемлющего пространственного молекулярного атласа интактной клетки, электронной и крио-электронной микроскопии в сочетании с техникой остановленного потока, количественной масспектрометрии, методов флуоресцентных зондов и флуоресцентной колебательной и методами и получением изображения в реальном времени (lifetime imaging), метода восстановления флуоресценции после фотоотбеливания для определения константы скорости и коэффициенты диффузии перемещающихся молекул в клетке, доли подвижных и неподвижных изучаемых молекул, методы радиационной инактивации, плазменной и ядерной резонансной спектроскопии, абсорбционной спектроскопии, с соответствующими биохимическими атомно-силовой микроскопии [5].

Сигнальные структуры могут обладать разнообразными свойствами: быть центрами связывания ионов, молекул и белков; обладать ферментативной активностью; образовывать каналы и межклеточные контакты; служить матрицей, организующей взаимодействие молекул в синтетических и транспортных процессах; служить рецепторами сигнальных молекул и основой для построения еще более сложных надмолекулярных структур. Эти структуры «вспыхивают» в пространстве клетки подобно сигнальным огням, выполняют свою роль и исчезают, чтобы появиться вновь в другом месте и в другое время. Смысл существования структурных «вспышек» в том, что при переходе в активное состояние клетке необходимы новые ресурсы, функции, механизмы, регуляторы и сигналы. Как только клетка переходит в состояние покоя, необходимость в этих структурах исчезает и они разбираются. Основная предпосылка для создания сигнальных градиентов — пространственная сегрегация противостоящих реакций (например, киназа и фосфатаза), существование градиента фосфорилированных белков (ВОХ 3) — высокие концентрации фосфорилированных белков примакают к мембранам, а низкие находятся в цитозоле [40]. На основании измерения значений диффузионной способности белков, активности киназ и фосфатаз, было показано, что во внутриклеточном пространстве существует большой градиент фосфопротеинов. Сильное связывание киназ в мембранах и цитозольная локализация фосфатаз, могла бы привести к неблагоприятным градиентам для переносчиков сигналов фосфорилирования, их распространению исключительно процессами диффузии, что препятствовало бы переносу информации [40]. Однако внутриклеточное проникновение биорегуляторов требует некоторого времени, поэтому их прямые внутриядерные и внутриклеточные эффекты носят отсроченный характер, а специфичность сигнализации достигается путем компартиментализации сигнальных комплексов в определенных участках мембраны. Затем внутриклеточные регуляторы-посланники, получив важные инструкции, обычно в результате посттрансляционных структурных модификаций, изменяют свою активность и вносят поправки в работу отдельных генов. Чаще всего рецептор собирается в комплекс с большим количеством белков с разными функциями, которые передают и распространяют сигнал, или ингибируют сигнал путем лимитирования времени жизни данного мультибелкового комплекса [11, 52]. Мультидоменные структурные и многомолекулярные белковые комплексы сигнальных макромолекул, состоящих из уникальных комбинаций компонентов сигнальных путей, мишеней поражения действия фармакологических средств, солокализованные с белками адапторами, получили название *сигнаლოსомы* [4, 12, 13, 15, 20, 27, 29, 36, 41, 44, 45, 46, 48, 51,

65]. Образование сигнаლოსом является ключевым механизмом выделения сигнального белка в специфическом субклеточном окружении, обеспечивая тем самым, способность белка (фермента) находиться вблизи соответствующих мишеней действия и предотвращать беспорядочную активность белков (ферментов) (рис. 2). Механизм регуляции образования и распада сигнаლოსом остается неизвестным. Установлено, что передача сигнала зависит от образования, несмотря большую скученность молекул во внутриклеточной среде, супрамолекулярных высокоориентированных белковых ансамблей (сигнаლოსом) в определенных клеточных компартаментах [44, 46]. Функционирование сигнаლოსом и их стабильность зависит от специфичности белок-белкового взаимодействия между сигнальными партнерами в ее составе, и обусловлено, в основном, свойствами, заложенными на ранних стадиях после их синтеза и структурно-конформационными свойствами мембран как структур с белково-липидной организацией [57, 58].

Сигнаლოსомы различных систем организма

Первое экспериментальное подтверждение сигнаლოსомная теория получила при визуализации сигнаლოსомы, образуемой при передаче сигнала в фоторецепторах *Drosophila*, вызванного световым стимулом (родопсином), с включением мультивалентного PDZ-домена белка InaD (форецептор специфический белок, Inactivation no afterpotential D (InaD)), эффектора фосфолипазы C (ФЛС), TRP (переходный потенциал рецептора)¹-канала и регуляторной ПКС (рис. 3). Эволюционно стабильным мультифункциональным белковым комплексом является COP 9 сигнаლოსома (CSN), вовлеченная в регуляцию убихинон лигаз. Этот комплекс состоит из 8 субъединиц (Csn 1-8) собранных в ансамбли в форме частиц с м.м. 450 кДа. Интересно, что COP9-сигнаლოსома образует последовательность 1:1 с 19S протеасомой, что предполагает общность их происхождения [15].

Образование сигнаლოსом из компонентов сигнальных путей и модулей, вовлеченных в пространственно-временную передачу сигналов в пределах клетки, координируют платформенные («scaffold») белки, открытые более 15 лет назад [13, 17, 52, 56]. Сигнальные комплексы состоят из ферментов, например, киназ и фосфатаз, их субстратов и адапторных/платформенных белков (рис. 3)⁴ которые прикрепляется с использованием модулированных доменов белок-белковых взаимодействий [10]. Платформенные белки располагаются исключительно в доменах взаимодействия при сниженной активности фер-

⁴ Различия между адапторными и «scaffold» белками заключается в том, что адапторные белки являются связующими между двумя белками-партнерами, тогда как «scaffold» белки между тремя и более [10].

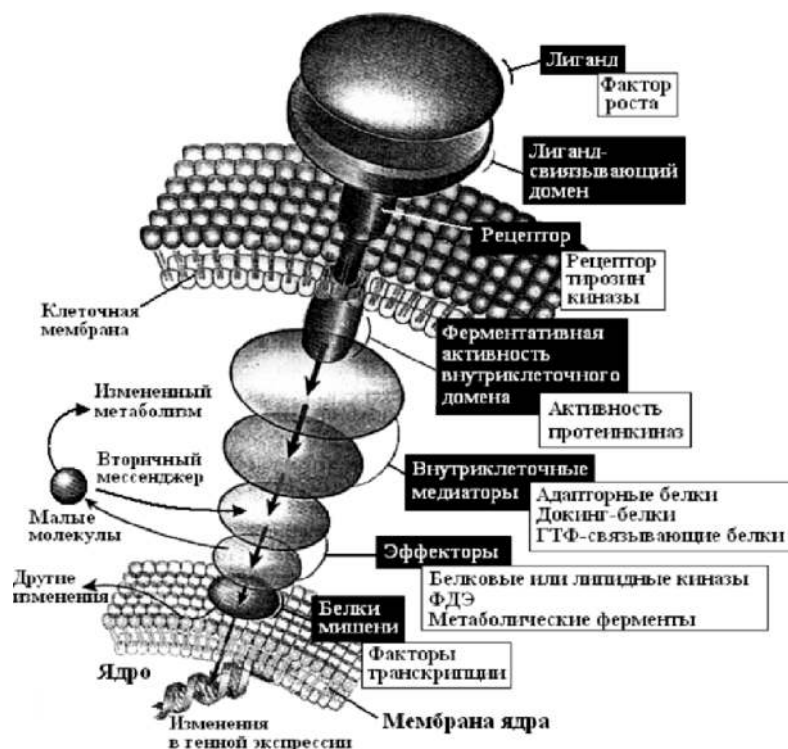


Рис. 2. Схематическое представление механизма сигнальной трансдукции. Связывание биологически активных лигандов с рецепторами вызывают изменение ферментативной активности рецептора и модифицируют ассоциацию рецептора с внутриклеточными медиаторами или локализацию и функцию самих медиаторов. Медиаторы могут вторично изменять активность «эффektorных» ферментов. Некоторые «эффektorы» могут перемещаться в ядро и контролировать экспрессию генов или принуждать к этому другие белки. Другие мишени — малые молекулы, которые генерируют дальнейшую передачу сигнальных медиаторов (вторичных мессенджеров) или контролируют метаболическое состояние клетки. Сигнальные пути могут охватывать целые классы таких молекул или могут включать несколько компонентов одного или более классов, и функционировать как последовательно, так и параллельно [27]. Темные квадратики показывают общие компоненты сигнального пути; белые — показывают специфические примеры.

ментов и играют важную роль в клеточной сигнализации: служат в качестве структурного (цитоскелетного, «костевого») материала и осуществляют прием различных сигналов путем связывания с различными партнерами. Платформенные белки контролируют олигомеризацию образующегося комплекса, доставляют сигнальный комплекс в специфические компартменты, функционируют как сортировочные адапторы и регулируют совпадение с детектором для повышения специфичности сигнального ответа [13]. Белки платформы организуются в подвижный платформенный ансамбль смешивания и согласования (подгонки) взаимодействующих доменов структурных субъединиц сигналом с участием якорных белков к различным субклеточным компартментам. Образование супрамолекулярных белковых платформ имеет большое значение в координации межклеточного взаимодействия, например, в синапсах. Так, сигналосома в синапсах образуется из белков-платформы, например, PDZ-домен-содержащего белка, в частности, белка постсинаптического уплотнения (PSD)-95, со специфическим центром которого взаимодействует НМДА-рецептор (N-метил-D-аспаратат-рецептор) и далее с актином цитоскелета

(рис. 3). При этом НМДА-рецепторы, как и глутаматные рецепторы, способны перемещаться из синапса во внесинаптическую мембрану и обратно [18]. Эти рецепторы имеют высокую аффинность к эндогенному агонисту и связывают глутамат в более низких концентрациях, чем AMPA (рецептор α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты) рецепторы, что делает их идеальным кандидатом на роль приемников в диффузной нейротрансмиссии [31]. Построенный ансамбль, называемый НМДА-сигналосома (рис. 3), обычно находится в заякоренном состоянии в межклеточном контакте в синапсе (постсинаптическом уплотнении), обеспечивает передачу интенсивности стимула при высвобождении нейротрансмиттера из другой клетки. Предполагается, что сигнальные платформы присутствуют в клетке примерно в стехиометрических количествах и играют, в основном, каталитическую роль. При этом гиперэкспрессия сигнальных платформ должна оказывать незначительное влияние на трансдукцию [13], а ингибирование сигнальной передачи, связанное с гиперэкспрессией белка кандидата на роль платформы, может быть одним из критериев платформенных белков.

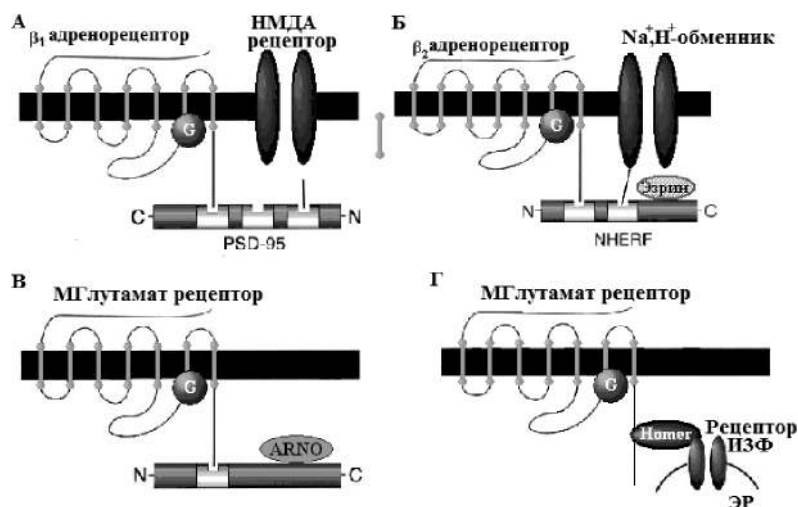


Рис. 3. Сигнаლოსомы, построенные с PDZ-домен, содержащие платформенные белки:
 А — НМДА сигнаლოსома — мультивалентный комплекс PDZ-домена белка постсинаптического уплотнения (PSD)-95 связанного с β_1 -адренергическим рецептором и ключевым эффектором, например, глутаматным рецепторным каналом НМДА-типа. Мыши, лишённые PSD95, обнаруживают нормальное образование кластеров НМДА рецепторов в синапсах, но нижестоящие сигнальные события, которые обычно сопровождают активацию этих рецепторов, серьезно нарушены. Это подчеркивает функцию MAGUK как мест пришвартовки (docking) нейротрансммиттеров, внутриклеточных сигнальных молекул (таких, как кальмодулинкиназа, цитоскелетных акцессорных белков (таких, как CRIPT (богатый цистеинами белок, взаимодействующий с PDZ 3)) и молекул клеточной адгезии (таких, как нейролигин);
 Б — мульти-PDZ белок связанный с Na^+, H^+ -обменником и β_2 -адренорецептором и актин-ассоциированным белком эзрином;
 В — PDZ-содержащий белок тамалин может быть через различные субтипы метаболотропного глутаматного (МГ-глутамат) рецептора связан с фактором АДФ-рибозилирования (ARF) открывающим нуклеотидсвязывающий центр (ARNO);
 Г — сигнаლოსома метаболотропного глутаматного рецептора, построенная с использованием в качестве белковой платформы белок Homer связанного с рецептором инозитол-1,4,5-трифосфатом (РИЗФ), обнаруженная в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР).

Сигнаლოსома и инфламасома.

Сигнаლოსомы и адаптация иммунной системы к внешнему стрессорному воздействию

Образование мультидоменных комплексов играет важную роль в поддержании баланса каскадов сигнальной трансдукции в функционировании иммунной системы для адекватного защитного ответа клеток иммунной системы на воздействие патогенами [12, 29]. Индукторами иммуногенного внутриклеточного сигнального каскада, приводящего к индукции генов антимикробной защиты и продукции провоспалительных цитокинов, считаются рецепторы системы врожденного иммунитета (суперсемейства рецепторов интерлейкина-1/Toll-подобных рецепторов⁵), распознающих широкий спектр

патоген-ассоциированных молекулярных паттернов (ПАМП), в том числе основополагающих структурно-молекулярных компонентов врожденной системы неспецифической защиты, образраспознающих рецепторов (PRR). PRR являются рецепторами эндогенных опасных сигналов, гемодинамических сдвигов при сепсисе (гипоперфузии тканей и ишемически/реперфузионного феномена). Эффекты Toll-подобных рецепторов (TLR) опосредуются сетью молекул внутриклеточного сигналинга, которые передают сигнал с клеточной поверхности в ядро и активируют гены иммунного ответа (рис. 4). Одни и те же сигнальные системы, могут быть причиной развития иммунодефицита, системного воспаления, коагуляции, поражения тканей в органах мишенях при сепсисе. Например, белки теплового шока, фибриноген, фибронектин, гиалуран, бигликаны и белки с высокомолекулярной *box-1* (HMGB-1) идентифицируются, как опасные (токсичные) молекулярные паттерны (ТАМП), часто ассоциированные с сепсисом. После связывания с лигандом Toll-подобные рецепторы димеризуются, и возникающие при этом конформационные изменения привлекают к цитоплазматической части рецептора (TIR-домену) адапторные белки, содержащие TIR-домен. Формируется сигнальный комплекс (сигнаლოსома), состоящий из цитоплазматической части рецептора и одного из четырёх содержащих TIR-домен адапторных белков: MyD88, TIRAP/Mal, Trif/Ticam и

⁵ Toll в переводе с немецкого означает «безумный», «изумительный», «несуразный», «ошеломительный», «паразитический», «удивительный») гена и кодируемого им белка. TLR относится к большому суперсемейству трансмембранных сигнальных PRR I типа — рецепторов ИЛ-1. Внеклеточный варибельный N-терминальный домен TLR содержит повторяющиеся олигопептидные фрагменты с высоким содержанием лейциновых повторов (leucine-rich repeats — LRR), которые являются структурно-молекулярной основой его способности взаимодействовать с лигандами. Расположенный с внутренней стороны клеточной мембраны цитозольный C-терминальный домен содержит структурно высококонсервативную последовательность из примерно из 200 аминокислотных остатков, гомологичную рецептору ИЛ-1 β , в связи с чем получившую название Toll-интерлейкин-1 рецептор (TIR) [29].

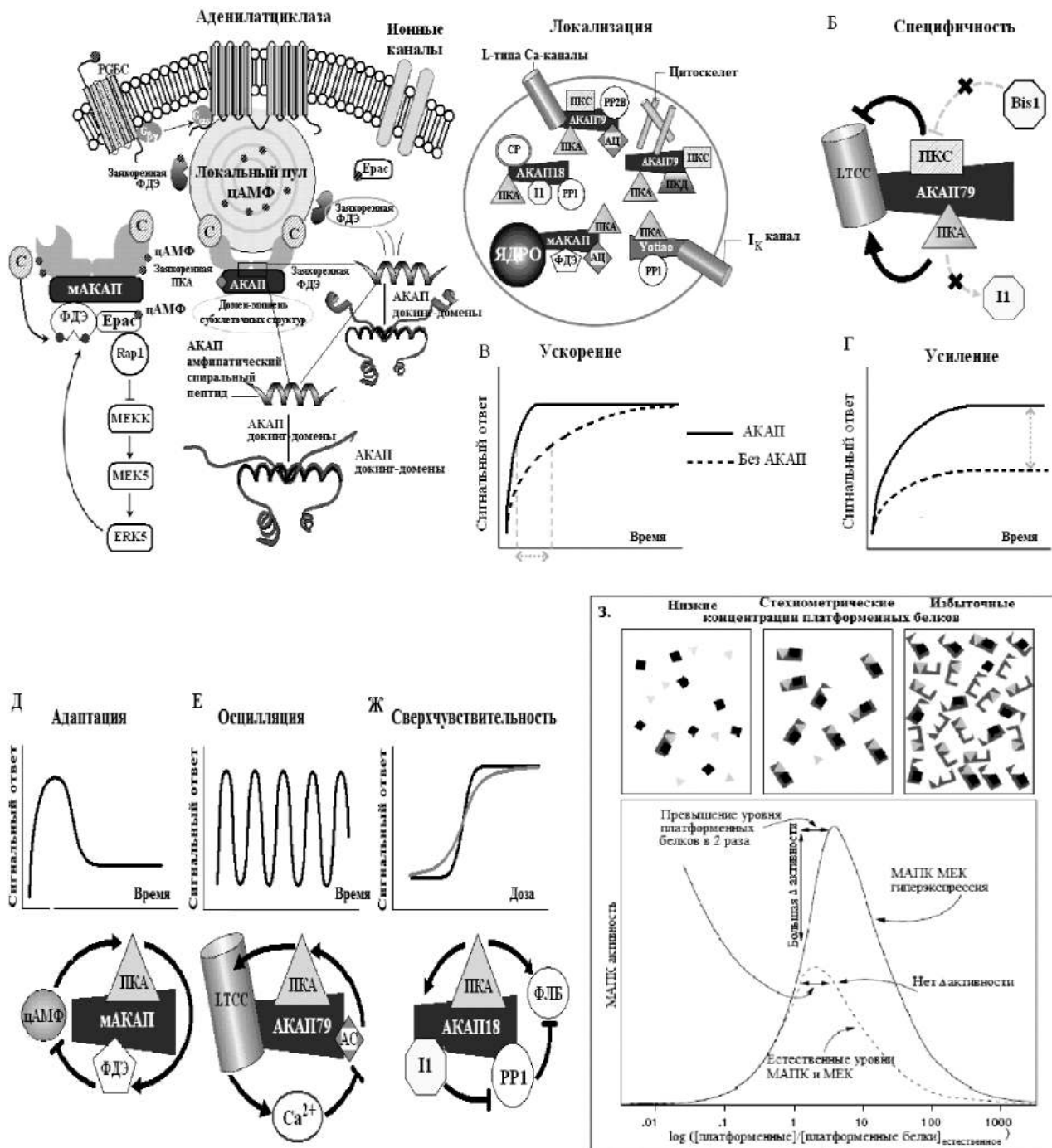


Рис. 5. Основные принципы АКАП сигнального механизма:
 А – различные компартиментализованные сигнальные платформы АКАП в клетке;
 Б – АКАП может осуществлять предшествующее взаимодействие на платформе [39];
 В – АКАП может повышать скорость трансдукции сигнала;
 Г – АКАП может повышать величину сигнального ответа. Примеры ответов сигнальных комплексов и соответствующих рабочих мотивов расположенных с АКАП;
 Д – негативная петля через ФДЭ вовлечена в адаптацию сигнала [26];
 Е – кальцевая негативная обратная связь со значительной отсрочкой can create осцилляцию PKA активности;
 Ж – двойное действие PKA на фосфорилирование фосфоламбана (ФЛБ) и ингибитор фосфатаз-1 (PP1), в обоих случаях приводящее к повышению коэффициента Хила;
 З – модель функционирования сигнальной платформы митогенактивируемой протеинкиназы (МАПК)-митоген-активируемой внутриклеточной регулируемой киназы (МЕК) [13].

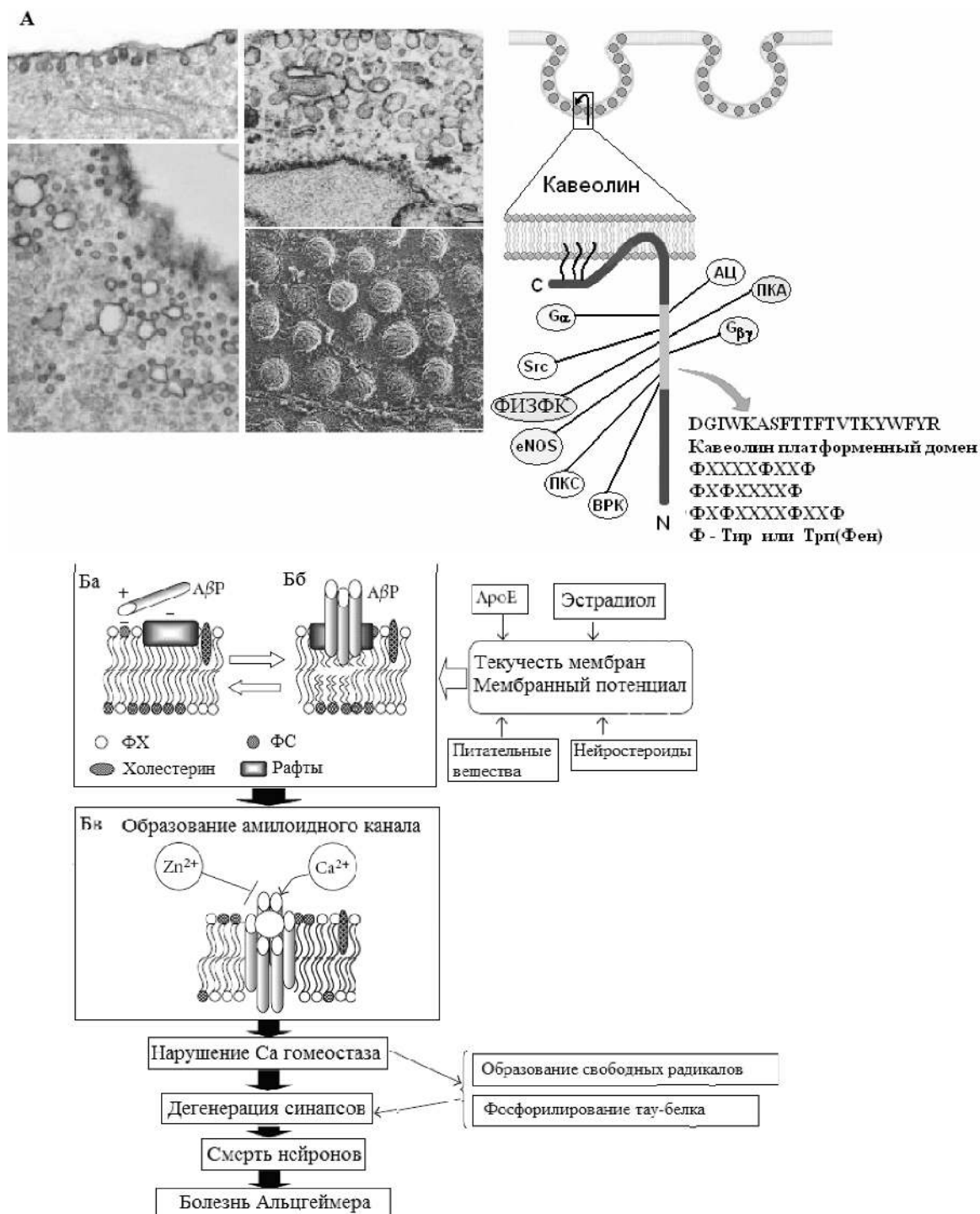


Рис. 6. Детальная организация липидных «плотиков» и кавеол в мембранах:

A – электронно-микроскопические и криоэлектронные снимки кавеол адипоцитов и кавеолин платформенный домен [21, 33, 34, 51]. Кавеола: жидкостно-упорядоченная и неупорядоченная фазы. При интеграции белка кавеолина-1, жидкостно-упорядоченные домены образуют малые приобретающие форму впячивания разрастания клеточной стенки в сторону цитоплазмы. Ансамбли мономеров кавеолина образуют дискретные гомоолигомеры (например, димеры), содержащие 14-16 молекул кавеолина;

Б – липидные «плотиков»: жидкая упорядоченная фаза обогащенная холестерином и экзоплазматическими сфинголипидами, фосфатидилхолином (ФХ), фосфатидилэтаноламином и фосфатидилсеринем (ФЭ), принимает участие в нейропротекции в ассоциации с белковой платформой (кавеолин-1 и потенциал-зависимые ионные (VDAC)) сконцентрированной в нейрональных микродоменах липидных «плотиков» [24, 34, 53, 55]. ApoE – фракция липидов мембран, AβP – β-амилоидный пептид.

ками, первичного мультибелкового комплекса, содержащего нуклеотид олигомеризующий домен (NOD)-подобные рецепторы (NLR), названного инфламасомой [12, 20, 46]. Это ведет к активации каспазы 1 и последующему процессингу активной внеклеточной формы интерлейкина (ИЛ)-1 β . При этом посттрансляционная активация каспазы полностью регулируется инфламасомой, известными компонентами которой являются каспаза-1, speck-подобный белок (ASC), ассоциированный с апоптозом и содержащий домен активации и рекрутирования каспаз, семейство белков с нуклеотид олигомеризующим доменом (NOD)-подобных рецепторов (NALP-1 и домен, содержащий пирин) и каспазу 5 [29]. Кроме того, может образовываться альтернативная инфламасома, сконструированная из пирина, NALP-3 и других белков семейства NOD-LRR [10]. Инфламасомы, включающие ASC, которые являются триггерами активации каспазы-1 и процессинга ИЛ-1 β , могут также регулировать активность NF- κ B (рис. 4), что сопрягает функционирование инфламасомы с сигналом [29].

Белки с доменом мультицентрового взаимодействия в структуре сигнасомы

В ряде исследований показано, что белки сигнальной платформы могут иметь в структуре домен с мультицентрами взаимодействия с другими соединениями или *мотив* [12]. Например, гомологичные индивидуальные мотивы взаимодействия были обнаружены в платформах сигнальных белков, взаимодействующих с якорными белками цитоскелета и центрами мембран, по-разному активируемых агонистами β -адренергических рецепторов (β -АР) и простаноидами, так называемые АКАП (якорные белки А-киназы), которые имеют в структуре короткий пептидный мотив для связывания регуляторной субъединицы ПКА (наиболее частый партнер) и других партнеров (фосфатаз) одновременно с выделением сигнального нанодомена — сигнасомы [13, 25, 26, 32] (рис. 5). В зависимости от того, какие белки образуются в сигналосому, АКАП способна повышать сигнальную трансдукцию в пределах платформы с минимизацией распространения вне платформы, обеспечивая специфичность ответа. При этом АКАП может выступать не только как непосредственный переносчик сигнала, но и как платформа, модулирующая образование, локализацию, специфичность, распространение и усиление сигнала третичными специфическими молекулярными комплексами, связанными с мембраной клетки (рис. 5). Хотя домен-мишень (target-domen) в АКАП пока не установлен, эффективная АКАП-таргетная терапия различных тканей будет зависеть от субклеточно-молекулярной специфичности разработанного средства в пределах клетки. Целенаправленное воздействие на специфические внутриклеточные компартменты

позволит модулировать сигнальную трансдукцию в зависимости от структуры-локализации. Со-локализация АКАП и ПКА с Ca^{2+} -каналами является необходимой для катехоламиновой активации каналов и проявления инотропизма [49]. Для мышечных клеток характерно присутствие мАКАП, которые образуют платформы для многих сигналов, включающих ПКА, аденилатциклазы (АЦ)-5, фосфодиэстеразы (ФДЭ), и таким образом регулируют уровень локального цАМФ, предотвращают сверхактивацию ПКА [41]. АКАП, локализуемая мАКАП сигналосому в цитоскелете, участвует в процессах миграции клетки, изменении градиента активности ПКА в плазматической мембране и модуляции гипертрофии сердца [16, 39, 56].

Сигнасома в регуляции гипоксии

Образование внутриклеточных ориентированных комплексов с мАКАП играет важную роль в регуляции индуцированного гипоксией фактора (HIF)-1 α ⁶ [2]. Так было показано, что мАКАП организует убикинон E3 лигазы, которые поддерживают стабильность HIF-1 α в оптимальном для его функции положении в центре ядра [56, 65]. Вымывание мАКАП из клетки, кардиомиоцитов например, или нарушение взаимодействия мАКАП с мишенью в перинуклеарной области изменяет стабильность HIF-1 α и транскрипцию генов, ассоциированных с гипоксией [24, 25, 64]. Компартментализация сигнальных компонентов, чувствительных к кислороду, может оказывать влияние на точность и величину гипоксического ответа и достигается в результате ассоциации мультибелкового сигнального комплекса регуляторного фактора HIF-1 α с АКАП, рассматриваемой в качестве кандидата на роль платформенного белка в организации комплекса HIF-1 α и связанных с ним регуляторных факторов. Показана взаимосвязь между сигнальными путями гипоксии и гипертрофии миокарда, возможным связующим звеном которых служит мАКАП: содержание мАКАП постоянно нарастает в ответ на гипертрофический стимул [64] с одной стороны, а с другой, мАКАП заякоривает 2 фермента, фактора обмена гуаниновых нуклеотидов, отвечающий на уровень цАМФ (Ерас-1) и модулирующий гипертрофический ответ и стабильность HIF-1 α . В условиях нормоксии в результате убиквитин-медируемой протеосомной деградации содержание HIF-1 α (время полужизни 5 мин) поддерживается на низком уровне. При снижении уровня кислорода происходит аккумуляция HIF-1 α в цитозоле, транслокация HIF-1 α в ядро с образованием

⁶ HIF-1 α — транскрипционный фактор, регулирующий ответ клеток на снижение уровня кислорода, представляющий собой гетеродимерный белок, состоящий из HIF-1 α и -1 β , мРНК которых экспрессируется при гипоксии [65].

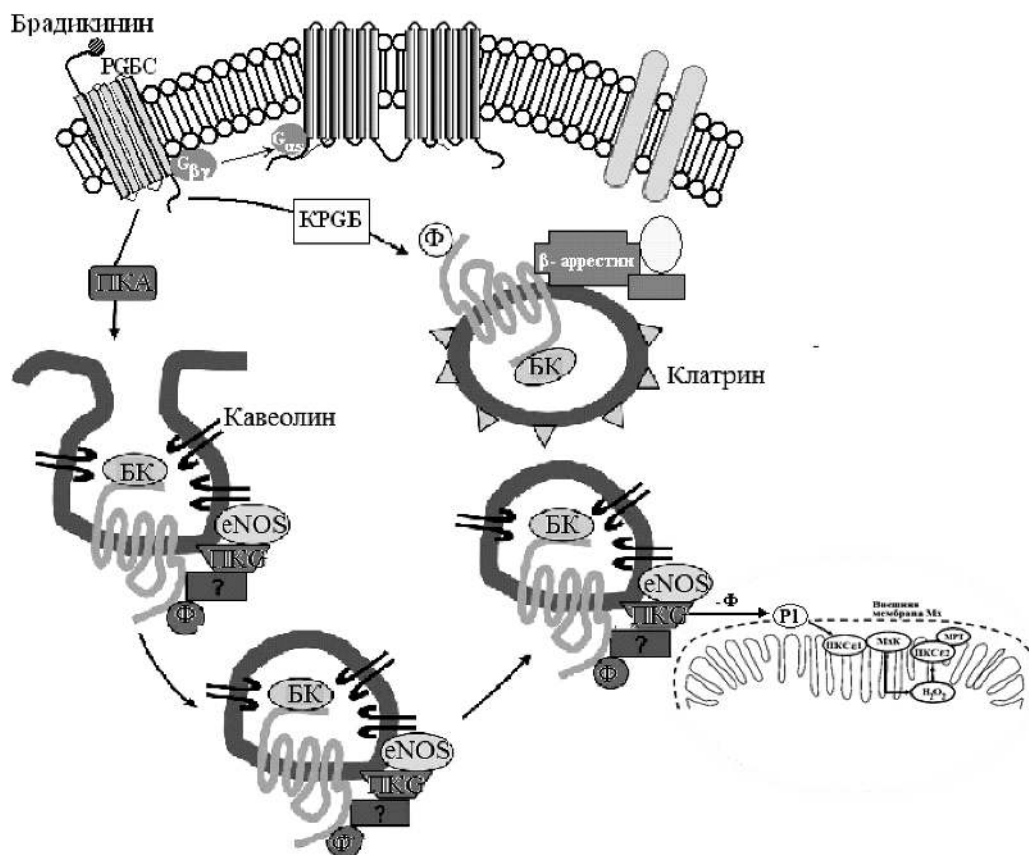


Рис. 7. Сигналосома, включающая брадикинин, содержащая фермент и сигнальный путь миграции сигнала к митохондри и индукции открытия митохондриального K^+ АТФ канала (брадикинин со своим рецептором индуцирует образование ансамбля с эндотелиальной NO-синтазой и протеинкиназой G (ПКГ) в кавеолярной (кавеолин 3) сигнальной платформе [38, 51].

гетеродимерного комплекса с HIF-1 β субъединицей и активацией процессов транскрипции проангиогенных, метаболитических и антиапоптотических генов [64]. Поскольку кардиомиоциты настроены на очень тонкую адаптацию к изменению уровня pO_2 , раннее накопление HIF-1 α рассматривается в качестве маркера острого инфаркта миокарда, и компенсаторное быстрое повышение ритма сердечной деятельности в ответ на симпатические и парасимпатические нервные импульсы.

Сигналосома и кавеолы

Участками сборки сигнальных комплексов, включающих рецепторы, эффекторы и внутриклеточные мишени для генерируемых вторичных посредников могут быть специализированные участки плазматической мембраны, называемые кавеолами. Кавеолы или пузырьки плазматической мембраны представляют собой не покрытые клатрином впячивания плазматической мембраны, размером 50—100 нм, богатые холестерином, сфинголипидами и белками кавеолинами [1] (рис. 7). Основным компонентом оболочки кавеол является интегральный мембранный белок кавеолин (мол. масса 21 кДа)

[6]. Обнаружено, что в кавеолах в больших количествах представлены самые различные компоненты сигнальных путей: рецептор инозитол-1,4,5-трифосфата (ИЗФ), рецепторы, связанные с G-белками, различные гетеротримерные G-белки, нерцепторные тирозинкиназы семейства Src, Ca^{2+} -АТФаза, Ras белки, рецепторы с собственной тирозинкиназной активностью, NO-синтаза, ПКГ, изоформы ПКС и транспортеры типа, например, Na^+ , K^+ -АТФазы [14]. Сюрпризом оказалось то, что в кавеолярных мембранных структурах сигнальные молекулы находятся в концентрациях, во много раз превышающих их содержание в свободной плазматической мембране. Эти наблюдения легли в основу принятой сегодня «кавеолярно/плотиковой(рафтовой)» сигнальной гипотезы, объясняющей механизм регуляции последовательности сигнальных событий и *cross-talk* между различными сигнальными путями как результат компартиментализации сигнальных молекул в клеточных компартаментах (рис. 1). При этом образование супрамолекулярных комплексов с кавеолинами регулируют и изменяют активность многих из перечисленных белков [14, 27, 38]. Кавеолярные ансамбли сигнальной платформы могут сворачиваться и интернализироваться

[33]. Показано, например, что рецептор-специфическая сигнальная платформа Na^+, K^+ -АТФазы собирается в кавеоле, и под воздействием сердечного гликозида может отделяться и интернализироваться как сигналосома, осуществляя тем самым перенос сердечного гликозида внутрь клетки [14, 51]. Предполагается, что взаимодействие брадикинина с его рецептором (Brk2) в миокарде также индуцирует образование везикулярной кавеолярной сигнальной платформы (сигнаლოსомы), которая фосфорилирует рецептор (R1) на внешней мембране Mx (идентичность не установлена) — сигнаლოსомная гипотеза работы брадикининового рецептора. Сигнаლოსома брадикининового рецептора, состоит из кавеолина, эндотелиальной NO -синтазы (eNOS), и ПКГ вблизи Mx . Терминальная киназа брадикининовой сигнаლოსомы ПКГ, фосфорилирует рецептор R1 по серин/треониновому остатку в мембране Mx , в отличие от сигнаლოსомы Na^+, K^+ -АТФазы, где концевой киназой является ПКА [51]. ПКГ локализована в Mx и в отсутствие активации брадикининового рецептора, тогда как брадикининовый рецептор, кавеолин и eNOS встраиваются в сигнаლოსому только при стимуляции брадикининового рецептора. Добавление данной сигнаლოსомы к Mx сердца без preconditionирования ведет к активации митохондриальных K^+ -каналов и блокируется бафиломицином или метил- β -циклодекстрином, что подтверждает роль эндосомальных и кавеолиновых сигнальных каскадов в процессе кондиционирования [48]. После фосфорилирования рецептора во внешней мембране Mx сигнал передается внутрь структуры и активирует ПКС ϵ 1 на внутренней стороне мембраны, а ввиду ее сопряженно-

сти в расположении с K^+ -каналами вызывает их открытие и в результате каскадных механизмов приводит к увеличению продукции H_2O_2 . H_2O_2 , в свою очередь, вторично активирует ПКС- ϵ 1 с последующим ингибированием некротических изменений в результате ингибирования митохондриальных пор (МРТ).

Показано, что важную роль в обеспечении структурно-функциональной организации кавеол играют липидные «плотики» («рафты») [23, 47, 53, 57]. При этом липидные микродомены участвуют в процессах передачи сигналов и в клетках, в которых кавеолы отсутствуют (Т-лимфоциты, базофилы). Оказалось, что определенные участки мембраны самоорганизованы в обогащенные холестерином «плотики», более плотные, чем остальные области мембраны, и потому свободно дрейфующие в окружающем пространстве. В зависимости от происходящих в жизни клетки событий эти «плотики» способны собираться в большие платформы, и тогда молекулы белков, которые до того находились на разных «плотиках», получают возможность встретиться и провзаимодействовать [57]. Однако некоторые белки, как оказалось, вообще не способны попасть на «плотики», и, чтобы эти белки могли прореагировать с «постояльцами плотов», клетка разрушает часть липидных «плотиков», и «постояльцы» оказываются выброшенными навстречу новым событиям. Локализация сигнальных белков в различных субклеточных областях, таких как внутренняя мембрана и мембранное микроокружение (включая липидные «плотики») модулирует прием сигнала, и таким образом участвовать в развитии множества различных физиологических ответов

Таблица

Некоторые примеры клетка-специфических Ca^{2+} -сигнальных сигнаლოსом

Структуры	Скелетная мышца	Сердце предсердие	Нейрон	Т-клетка
Рецепторы		$\alpha_1\text{P}$ ЭТ-1 РАГП	P1mGlu M1	ТСР
Фосфолипаза С		ФЛС β	ФЛС β	ФЛС γ 1
Каналы входа	$\text{Ca}_{v1.1}$	$\text{Ca}_{v1.2}$	$\text{Ca}_{v1.2}/\text{Ca}_{v2.1}$ $\text{Ca}_{v2.2}/\text{PHMДА}$	
Каналы выходы	RYR_1	RYR_2 $\text{P}_2\text{ИЗФ}$	RYR_2 $\text{P}_2\text{ИЗФ}$	$\text{P}_1\text{ИЗФ}$
Са-АТФаза плазматической мембраны (ПМСА)	ПМСА 1a, 1c, 1d	ПМСА 1c, 1d, 2a	ПМСА 2a, 3a	ПМСА 4b
Са-АТФаза СР (SERCA)	SERCA 1a, 1b	SERCA 2a	SERCA 2b, 3	SERCA 2b, 3
Na-Са-обменник	Na-Са-обменник	Na-Са-обменник 1	Na-Са-обменник 1,3	—
Буферы	Парвальбумин	Парвальбумин	Парвальбумин Калбиндин 28К	
Сенсоры	Тропонин + Кальмодулин	Тропонин + Кальмодулин	Кальмодулин	Кальмодулин

на активацию внеклеточными стимулами, в частности, в обеспечении нейро- и кардиопротекции [33, 34, 45, 60].

Сигнасомы с кавеоллярными структурами и/или липидными плотиками

Сигнасомная структура, участвующая в механизме нарушения нейропротекции при болезни Альцгеймера была открыта учеными из Дрезденского института молекулярной клеточной биологии и генетики им. Макса Планка [44, 45]. Было показано, что она состоит из эстрогенного рецептора в ассоциации с белковой платформой (кавеолин-1 и потенциал-зависимые ионные VDAC)) [22]. VDAC обычно сконцентрированы в нейрональных микродоменах липидных «плотиков», где была показана их способность взаимодействовать с эстрогеновыми рецепторами с образованием части макромолекулярного комплекса, который вместе с кавеолином 1 и другими сигнальными белками образует сигнасому [23]. В данной сигнасоме эстрогенный рецептор оказывает нейропротекторный эффект через модуляцию активации VDAC, тем самым восстанавливая, нарушенное при болезни Альцгеймера взаимодействие эстрогенного рецептора и VDAC в липидных «плотиках» — явления, лежащего в основе улучшения функции нейронов. Изменения в образовании и конформационном состоянии β -амилоидного белка, компонента внеклеточных бляшек в мозге у пациентов с болезнью Альцгеймера. Описанные механизмы патогенеза рассматриваются в качестве альтернативного механизма функционирования эстрогенового рецептора и играют важную роль в механизме нейропротекции при болезни Альцгеймера. При этом липидные плотики выступают в качестве естественных платформ для олигомеров β -амилоидного белка, образование которых связано с развитием нейротоксичности [6, 19]. Природа патогенетических свойств агрегатов важна для идентификации правильных мишеней при разработке эффективных лекарственных препаратов.

Са-сигнасома

В исследованиях транскрипции генов, кодирующих переносчики кальция в плазматической (PMCA и Na^+ , Ca^{2+} -обменник) и внутриклеточной мембранах (рецептор ИЗФ), показано, что Ca^{2+} как сигнальная молекула обладает авторегулирующими свойствами [19]. В мозжечковых нейронах синтезируются четыре основных изоформы насоса PMCA, три основных изоформы Na^+ , Ca^{2+} -обменника, и рецептор ИЗФ типа 1. Каждый тип клеток имеет строго определенный набор инструментов (Ca^{2+} -toolkit) для осуществления адекватного ответа на Ca^{2+} -сигналы в пространстве и во времени, названный Ca^{2+} -сигналь-

ной сигнасомой, генерируемой на уровне экспрессии в процессе развития [6, 19, 30]. Клеткоспецифичность Ca^{2+} -сигнасомы обеспечивает быстрое высвобождение Ca^{2+} для активации сокращения скелетной и сердечной мышц, тогда как Ca^{2+} -сигнасомы Т-клетки создают медленное повторяющееся высвобождение Ca^{2+} необходимое для пролиферации клетки (таблица).

Существует множество доказательств, что Ca^{2+} -сигнасома может играть роль ключевого регулятора обратной связи между длительной активацией Са-сигнасомы и срывом адаптации, переключения Ca^{2+} -сигнальных механизмов, а применение селективных ингибиторов Са-каналов позволяет повышать ρCa и устранять сдвиги в Са-сигнальных модулях [43].

Заключение

Образование сигнасом является ключевым механизмом выделения сигнального белка в специфическом субклеточном окружении, обеспечивая тем самым, способность белка (фермента) находиться вблизи соответствующих мишеней действия и предотвращения беспорядочную активность белков (ферментов). Образование сигнасом важный механизм компартиментализации сигнальных путей в сложном в сложном механизме сигнальной трансдукции клетки и развитии порочных кругов поддержания и прогрессирования заболеваний. Белки, образующие платформы для построения сигнасом, выполняют важную регуляторную роль в различных сигнальных путях, хотя прямо не принимают участие в выполнении функции, они взаимодействуют и/или связываются с множеством сигнальных путей, организуя их в комплексы и тем самым регулируют передачу сигнала и помогают локализации компонентов (компартиментализации) данного пути в специальной области клетки, например, плазматической мембране, цитоплазме, или ядре, комплексе Гольджи, эндосоме, Мх. Это приводит к переходной, но благоприятной ориентации отдельных молекул в пределах комплекса, позволяя быстрое взаимодействие с дополнительными компонентами. С другой стороны, такая система должна определить свою стабильность (и поэтому свою целую жизнь), уравновешивая силы межмолекулярных взаимодействий в пределах комплекса, чтобы выполнить требование обратимости (т.е. способность быстро демонтировать). Переходные взаимодействия между сигнальными промежуточными звеньями и якорными комплексами (например, на мембране) предполагают более эффективное взаимодействие, чем просто преходящие взаимодействия в якорных комплексах [11]. Взаимодействие между «свободными» компонентами и комплексами часто бывает ответственным за переключение комплекса в активное состояние, и предполагает присутствие неактивированно-

го комплекса в состоянии предготовности, но без активации низходящего каскада событий. Такой конституционно «молчаливый» («silent») комплекс в поющих клетках наблюдается экспериментально на примере, МЕК-ERK комплекса [13] или актомиозин-АДФ-Ф комплекса с гликолитическими ферментами в покое в миофибриллах поперечно-полосатых мышц [3], и существующих для облегчения трансмиссии сигнала путем быстрой ассоциации компонент в один ансамбль, тем самым уменьшая реакционное пространство. Внутриклеточное пространство (мембраны, цитоплазмы, нуклеоплазмы) является средой с высоким уровнем молекулярной скученности, которая интерферирует со свободной диффузией и в присутствии ряда структурных барьеров, мембраны или нити актина и т.д., которые сами постоянно претерпевают изменения, отдаляют движение внутриклеточных структур от броуновского теплового движения. События осложняются мультидоменной природой сигнальных макромолекул, образующих мультимолекулярные комплексы, сигналосомы, которые являются высокоориентированными, несмотря на большую скученность во внутриклеточной среде. Все дифференцированные клетки имеют свои специфические сигналосомы, функционирование которых заключается в преобразовании входящего сигнала в ответную функцию. Состояние болезни развивается в результате ремоделирования сигналосомы, как фенотипического, так и генотипического, и таким образом участвовать в развитии множества различных физиологических ответов на активацию внеклеточными стимулами. Понимание патофизиологических механизмов формирования дефектов в сигналосоме и взаимосвязи между ремоделированием сигналосомы, ремоделированием внутриклеточных структур и миокарда, в целом, как и ремоделирование функционирования сигналосомы, позволит сделать существенный шаг вперед в создании и внедрении фармакологических средств таргетной терапии сердечно-сосудистых, нейродегенеративных заболеваний и устранении напряженности иммунной системы.

Список литературы

1. **Воробьев Р.И., Шумахер Г.И., Хорева М.А.** и др. Роль кавеол и кавеолинов в норме и патологии // Кардиовас. терапия и профилактика. — 2008. — 7(8). — С. 105—111.
2. **Лукьянова Л.Д., Кирова Ю.А., Сукоян Г.В.** Новые данные о сигнальных механизмах адаптации к гипоксии и их роль в системной регуляции // Патогенез. — 2011. — 3. — С. 4—14.
3. **Подлубная З.А., Цховребова Л.А., Сукоян Г.В.** и др. Взаимодействие альдолазы с тонкими нитями в составе I-дисков, изолированных из скелетных мышц // Цитология. — 1989. — 31(4). — С. 460—464.
4. **Сукоян Г.В.** Сигналосомы сердца, как терапевтические мишени при гипоксически-ишемически-реперфузионных поражениях миокарда // Патогенез. — 2011. — 3. — С. 64.
5. **Терентьев А.А., Молдогазиева Н.Т., Шайтан К.В.** Белок-белковые взаимодействия // Успехи биологической химии. — 2009. — 49. — С. 429—480.
6. **Adebiyi A., Narayanan D., Jaggari J.H.** Caveolin-1 Assembles Type 1 inositol 1,4,5-trisphosphate receptors and canonical transient receptor potential 3 channels into a functional signaling complex in arterial smooth muscle cells // J. Biol. Chem. — 2011. — Vol. 286. — P. 4341—4348.
7. **Ardehali H., Sabbah H.N., Burke M.A.** et al. Targeting myocardial substrate metabolism in heart failure: potential for new therapies // Eur. J. Heart. Fail. — 2012. — Vol. 14 (2). — P. 120—129.
8. **Balagopalan L., Coussens N.P., Sherman E.** et al. The LAT Story: A Tale of Cooperativity, Coordination, and Choreography // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. — 2010. — Vol. 2(8). — a005512 — a005512.
9. **Bhattacharyya R., Remenyi P., Yeh B.J., Lim W.A.** Domains, motifs, and scaffolds: the role of modular interactions in the evolution and wiring of cell signaling circuits // Annu. Rev. Biochem. — 2006. — Vol. 75. — P. 655—680.
10. **Bray D.** Signaling complexes: biophysical constraints on intracellular communication // Annu. Rev. Biophys. Biomol. Structure. — 1998. — Vol. 27. — P. 59—75.
11. **Bray D.** The cell as a thermostat: how much does it know? in Advances in Systems Biology / Goryanin I.I., Goryachev A.B., eds. — Springer-Verlag, London // Advances in Experimental Medicine and Biology. — 2012. — Vol. 736. — P. 193—198.
12. **Brockmeyer C., Paster W., Pepper D.** et al. T Cell Receptor (TCR)-induced Tyrosine Phosphorylation Dynamics Identifies THEMIS as a New TCR Signalosome Component // J. Biol. Chem. — 2011. — Vol. 286 (9). — P. 7535—7547.
13. **Burack W.R., Shaw A.A.** Signal transduction: hanging on a scaffold // Current Opinion in Cell Biology. — 2000. — Vol. 12. — P. 211—216.
14. **Cai T., Wang H., Chen Y.** et al. Regulation of caveolin-1 membrane trafficking by the Na/K-ATPase // J. Cell. Biol. — 2008. — Vol. 182. — P. 1153—1169.
15. **Calebiro D., Nikolaev V.O., Lohse M.J.** Signaling by internalized G-protein-coupled receptors // Trends Pharmacol. Sci. — 2010. — Vol. 31. — P. 221—228.
16. **Carnegie G.K., Soughayer J., Smith F.D.** et al. A-Kinase Anchoring Proteins That Regulate Cardiac Remodeling // Cardiovasc. Pharmacol. — 2011. — Vol. 58(5). — P. 451—458.
17. **Cebecauer M., Spitaler M., Serge A., Magee A.I.** Signaling complexes and clusters: functional advantages and methodological hurdles // J. Cell. Sci. — 2010. — Vol. 123(Pt 3). — P. 309—320.
18. **Chen X., Nelson C., Li X.** et al. PSD-95 is required to sustain the molecular organization of the postsynaptic density // J. Neurosci. — 2011. — Vol. 31(17). — P. 6329—6338.
19. **Cheng H., Wei S., Wei L., Verkhratsky A.** Calcium signaling in physiology and pathophysiology // Acta Pharmacol. Sin. — 2006. — Vol. 27(7). — P. 767—772.
20. **Chidlow J.H., Sessa W.C.** Caveolae, caveolins, and caveins: complex control of cellular signalling and inflammation // Cardiovascular Research. — 2010. — Vol. 86. — P. 219—225.
21. **Coggins M., Rosenzweig A.** The Fire Within: Cardiac Inflammatory Signaling in Health and Disease // Circ. Res. — 2012. — Vol. 110. — P. 116—125.
22. **Dai S., Hall D.D., Hell J.W.** Supramolecular Assemblies and Localized Regulation of Voltage-Gated Ion Channels // Physiol. Rev. — 2009. — Vol. 89(2). — P. 411—452.
23. **Das M., Das D.K.** Lipid Raft in Cardiac Health and Disease // Curr. Cardiol. Rev. — 2009. — Vol. 5(2). — P. 105—111.
24. **Dodge-Kafka K.L., Bauman A., Kapiloff M.S.** A-kinase anchoring proteins as the basis for cAMP signaling // Handb. Exp. Pharmacol. — 2008. — (186). — P. 3—14.
25. **Dodge-Kafka K.L., Soughayer J., Pare C.G.** et al. The protein kinase A anchoring protein mAKAP co-ordina-

- tes two cAMP effector pathway // *Nature*. — 2005. — Vol. 437. — P. 574–578.
26. **Downard J.** The ins and outs of signaling // *Nature*. — 2001. — Vol. 411. — P. 759–762.
27. **Jordan J.D., Landau E.M., Iyengar R.** Signaling networks: the origins of cellular multitasking // *Cell*. — 2000. — Vol. 103(2). — P. 193–200.
28. **Ferrao R., Li J., Bergamin E., Wu H.** Structural Insights into the Assembly of Large Oligomeric Signalosomes in the Toll-Like Receptor-Interleukin-1 Receptor Superfamily // *Sci. Signal*. — 2012. — 5. — re3.
29. **Gold M.G., Stengel F., Nygren P.J.** et al. Architecture and dynamics of an A-kinase anchoring protein 79 (AKAP79) signaling complex // *PNAS*. — 2011. — Vol. 108(16). — P. 6426–6431.
30. **Gonzalez A., Ravassa S., Beaumont J.** et al. New targets to treat the structural remodeling of the myocardium // *J. Am. Coll. Cardiol*. — 2011. — Vol. 58(18). — P. 1833–1843.
31. **Good M.C., Zalatan J.G., Lim W.A.** Scaffold Proteins: Hubs for Controlling the Flow of Cellular Information // *Science*. — 2011. — Vol. 332. — P. 680–686.
32. **Greenwald E.C., Saucerman J.J.** Bigger, better, faster: principles and models of AKAP signaling // *J. Cardiovasc. Pharmacol*. — 2011. — Vol. 58(5). — P. 462–469.
33. **Harvey R.D., Calaghan S.C.** Caveolae create local signalling domains through their distinct protein content, lipid profile and morphology // *J. Mol. Cell. Cardiol*. — 2012. — Vol. 52(1). — P. 366–375.
34. **Horikawa Y.T., Panneerselvam M., Kawaraguchi Y.** et al. Cardiac-Specific Overexpression of Caveolin-3 Attenuates Cardiac Hypertrophy and Increases Natriuretic Peptide Expression and Signaling // *J. Am. Coll. Cardiol*. — 2011. — Vol. 57. — P. 2273–2283.
35. **Houslay M.D.** Underpinning compartmentalized cAMP signaling through targeted cAMP breakdown // *Trends in Biochem. Science*. — 2009. — Vol. 30(10). — P. 1–10.
36. **How C.L.** Modeling the signaling endosome hypothesis: Why a drive to the nucleus is better than a (random) walk // *Theor. Biol. Med. Modeling*. — 2005. — Vol. 2. — P. 43–58.
37. **Iancu R.V., Ramamurthy G., Harvey R.D.** Spatial and temporal aspects of cAMP signaling in cardiac myocytes // *Proceedings of the Australian Physiological Society*. — 2008. — Vol. 39. — P. 31–37.
38. **Kang M., Chung K.Y., Walker J.W.** G-protein coupled receptor signaling in myocardium: not for the faint of heart // *Physiology (Bethesda)*. — 2007. — Vol. 22. — P. 174–184.
39. **Kapiloff M.S.** AKAPs: temporal and spatial regulation of intracellular signal transduction in the cardiovascular system // *J. Cardiovasc. Pharmacol*. — 2011. — Vol. 58. — P. 337–338.
40. **Kholodenko B.N.** Cell-signalling dynamics in time and space // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. — 2006. — Vol. 7. — P. 165–176.
41. **Kritzer M.D., Li J., Dodge-Kafka K., Kapiloff M.S.** AKAPs: The architectural underpinnings of local cAMP signaling // *J. Mol. Cell. Cardiol*. — 2012. — Vol. 52(2). — P. 351–358.
42. **Linderman J.J.** Modeling of G-protein coupled receptor signaling pathways // *J. Biol. Chem*. — 2009. — Vol. 284. — P. 5427–5431.
43. **Magno A.L., Ward B.K., Ratajczak T.** The calcium-sensing receptor: a molecular perspective // *Endocrine Rev*. — 2011. — Vol. 32(1). — P. 3–30.
44. **Marin R.** Signalosomes in the Brain: Relevance in the Development of Certain Neuropathologies Such as Alzheimer's Disease // *Front Physiol*. — 2011. — Vol. 2. — P. 23–29.
45. **Marin R., Marrero-Alonso J., Fernandez C., Cury D., Diaz M.** Estrogen receptors in lipid raft signalling complexes for neuroprotection // *Front. Biosci. (Elite Ed.)*. — 2012. — Vol. 4. — P. 1420–1433.
46. **Matthew C., Rosenzweig A.** The Fire Within: Cardiac Inflammatory Signaling in Health and Disease // *Circ. Res*. — 2012. — Vol. 110. — P. 116–125.
47. **Michel V., Bakovic M.** Lipids rafts in health and disease // *Biol. Cell*. — 2007. — Vol. 99. — P. 129–140.
48. **Murphy E., Wong R., Steenbergen C.** Signalosomes: delivering cardioprotective signals from GPCRs to mitochondria // *Am. J. Physiol*. — 2008. — Vol. 295. — H920–H922.
49. **Negro A., Dodge-Kafka K., Kapiloff M.S.** Signalosomes as therapeutic targets // *Prog. Pediatr. Cardiol*. — 2008. — Vol. 25(1). — P. 51–56.
50. **Ostrom F.S.** New determinants of receptor-effector coupling: trafficking and compartmentation in membrane microdomains // *Mol. Pharmacol*. — 2002. — Vol. 61(3). — P. 473–476.
51. **Quinlan C.L., Costa A.D.T., Costa C.L.** et al., Conditioning the Heart Induces Formation of Signalosomes that Interact with Mitochondria to Open MitoKATP // *Am. J. Physiol*. — 2008. — Vol. 295. — H953–H961.
52. **Pawson T., Scott J.D.** Signaling Through Scaffold, Anchoring, and Adaptor Proteins // *Science*. — 1997. — Vol. 278 (5346). — P. 2075–2080.
53. **Pristera A., Okuse K.** Building Excitable Membranes: Lipid Rafts and Multiple Controls on Trafficking of Electrogenic Molecules // *Neuroscientist*. — 2012. — Vol. 18. — P. 70–81.
54. **Sanderson J.L., Dell'Acqua M.L.** AKAP Signaling Complexes in Regulation of Excitatory Synaptic Plasticity // *Neuroscientist*. — 2011. — Vol. 17. — P. 321–336.
55. **Schengrund C.L.** Lipid rafts: keys to neurodegeneration // *Brain Res. Bull*. — 2010. — Vol. 82. — P. 7–17.
56. **Scott J.D., Santana L.F.** A-kinase anchoring proteins. Getting to the heart of the matter // *Circulation*. — 2010. — Vol. 121. — P. 1264–1271.
57. **Simons K., Gerl M.J.** Revitalizing membrane rafts: new tools and insights // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol*. — 2010. — Vol. 11(10). — P. 688–699.
58. **Singer S.J., Nicolson G.L.** The fluid mosaic model of the structure of cell membranes // *Science (Wash DC)*. — 1972. — Vol. 175. — P. 720–731.
59. **Stangherlin A., Zaccolo M.** Phosphodiesterases and subcellular compartmentalized cAMP signaling in the cardiovascular system // *Am. J. Physiol*. — 2012. — Vol. 302. — H379–H390.
60. **Tsutsumi Y.M., Horikawa Y.T., Jennigs M.M.** et al. Opioid-induced preconditioning is dependent on caveolin-3 expression // *Anesth. Analg*. — 2010. — Vol. 111(5). — P. 1117–1121.
61. **Verschuren J.J.W., Trompet St., Wessels J.A.M.** et al. First published online: July 30, 2011.
62. **Vondriska T.M., Pass J.M., Ping P.** Scaffold proteins and assembly of multiprotein signaling complexes // *J. Mol. Cell. Cardiol*. — 2004. — Vol. 37(2). — P. 391–397.
63. [European Heart Journal](http://EuropeanHeartJournal.oxfordjournals.org) www.oxfordjournals.org
64. **Wong W., Goehring A.S., Kapiloff M.S.** et al. mAKAP compartmentalizes oxygen-dependent control of HIF-1 α // *Sci. Signal*. — 2008. — Vol. 51(1). — P. 18.
65. **Zhang P., Mende U.E.** Regulators of G-Protein Signaling in the Heart and Their Potential as Therapeutic Targets // *Circ. Res*. — 2011. — Vol. 109. — P. 320–333.
66. **Zhou H.X., Rivas G., Minton A.P.** Macromolecular crowding and confinement: biochemical, biophysical, and potential physiological consequences // *Annu. Rev. Biophys.* — 2008. — Vol. 37. — P. 375–397.

Поступила 12.10.12