

# Полиненасыщенные жирные кислоты как сигнальные молекулы

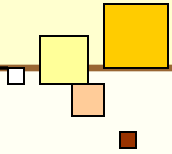
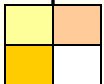
*Марина Глебовна  
Сергеева*



Институт физико-химической биологии  
им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва  
Семинар 15.02.2007

# Полиненасыщенные жирные кислоты как сигнальные молекулы

- 1. Липидомика и липидология
- 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные липиды: синтез, окисл. метаболизм, мишени
- 3. Фосфолипаза A2
- 4. Ядерные рецепторы (PPARs)
- 5. Использование биоинформатики и подходов системной биологии для анализа воспалительных процессов на уровне клеток



# 1. Липидомика и липидология

**Липидомика - системный анализ липидов и взаимодействующих с ними молекул (белки, нуклеиновые кислоты, глутатион и т.п.).**

**Появление термина «липидомика»:**

[98] Han X, Gross RW. Global analyses of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples by ESI mass spectrometry: a bridge to lipidomics. *J Lipid Res.* **2003**, 44(6):1071

**Первая книга – 2005 г.**

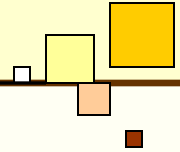
(Feng L and Prestwich GD (eds) **Functional Lipidomics** (Dekker-CRC, New York, 2005)

**Появление термина «липидом»:**

[20] Kishimoto K, Urade R, Ogawa T, Moriyama T. Nondestructive quantification of neutral lipids by thin-layer chromatography and laser-fluorescent scanning: suitable methods for "lipidome" analysis. *Biochem Biophys Res Commun.* **2001**, 281(3):657

**Существует около 1000 (4000) липидов; анализируют более 20 классов (около 95% от массы липидома)**

# 1. Липидомика и липидология



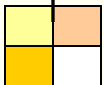
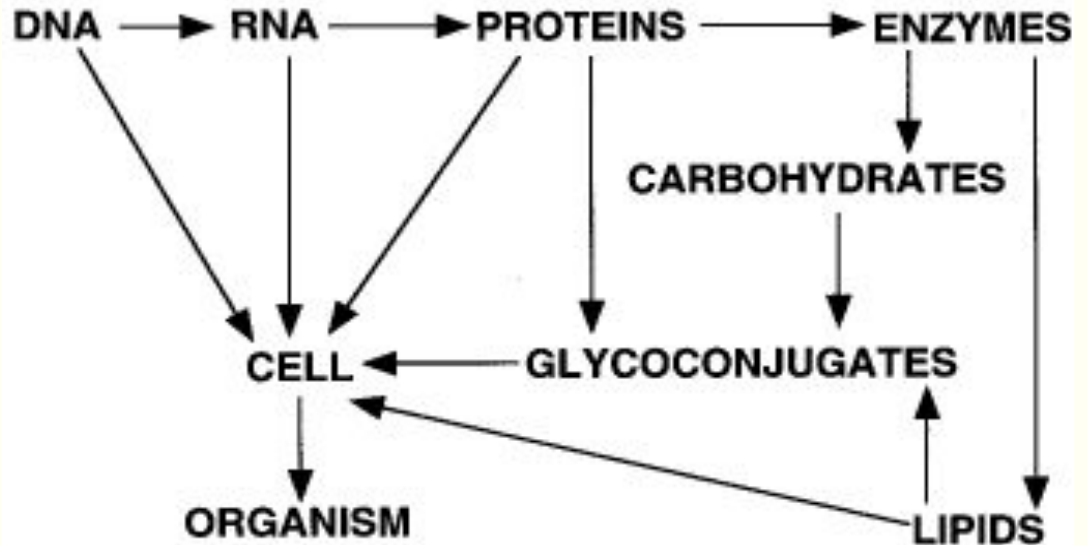
**Интерес к липидомике связан с:**

**1. Изменение общих подходов к изучению клеток**

**Классическая парадигма:**



**Парадигма постгеномной эры:**



# 1. Липидомика и липидология

**Интерес к липидомике связан с:**

**2. Накоплением данных о нарушении метаболизма липидов при заболеваниях человека**

**Диабет, изб.вес и др. - ядерные рецепторы (PPAR)**

**Сердечно-сосудистые заболевания – простагландины и др. эйкозаноиды**

**Пролиферация клеток, миграция, апоптоз -**

полиненасыщенные жирные кислоты,

простагландины и др. эйкозаноиды

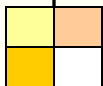
NSAIDs

(3-фосфоинозиды; церамиды; сфингозин-1 фосфат; лизофосфолипиды)

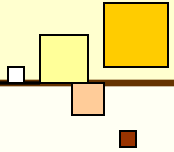
**Нейродегенеративные заболевания, шизофрения, депрессия**

полиненасыщенные жирные кислоты

**Астма – лейкотриены (lukasts + пак)**



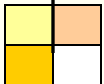
# 1. Липидомика и липидология



**Интерес к липидомике связан с:  
3. Созданием методов, позволяющих анализировать  
разнообразные липиды**

**ESI/MS; LC/MS/MS**

**Lipid arrays ([ссылка](#))**



# 1. Липидомика и липидология

## Липидология

*Интерфазный катализ (sPLA2)*

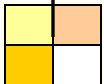
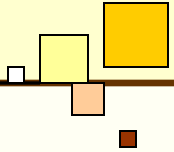
*Формирование мембран*

*Липиды мембран как предшественники сигнальных молекул*

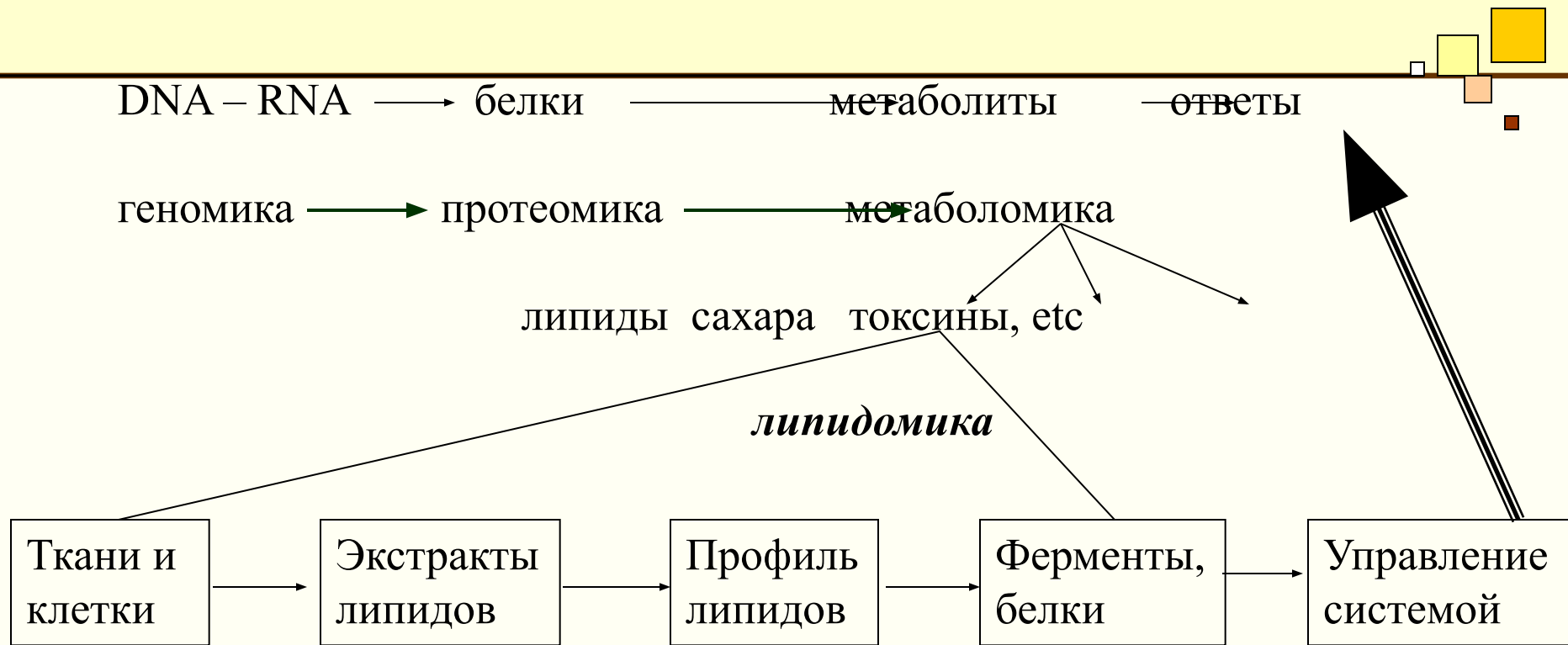
*Липид-белковые взаимодействия*

*«Липидно-аналитические работы» - диагностические цели*

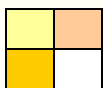
*Т.е. структурная и сигнальная липидомика*



# 1. Липидомика и липидология

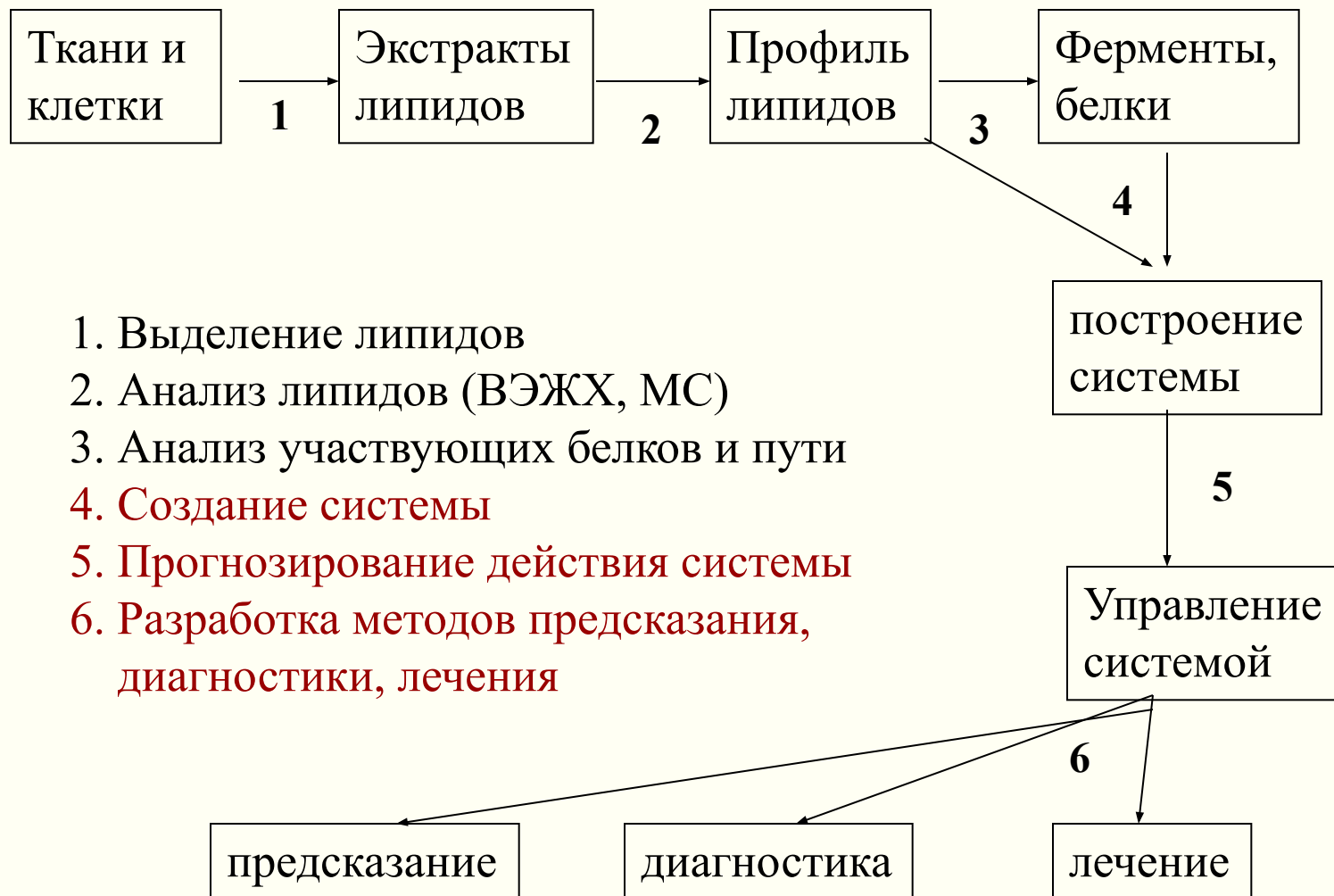


**Место липидомики среди других «-омик»**





# 1. Липидомика и липидология



## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

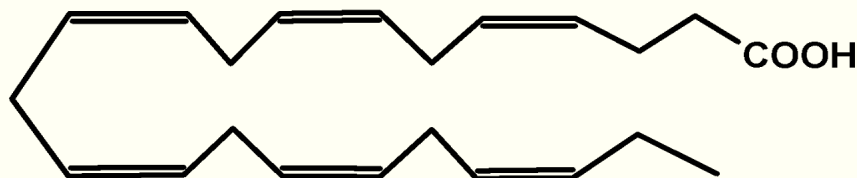
n-7

пальмитоеновая  
16:1 $\omega$ 7

n-9

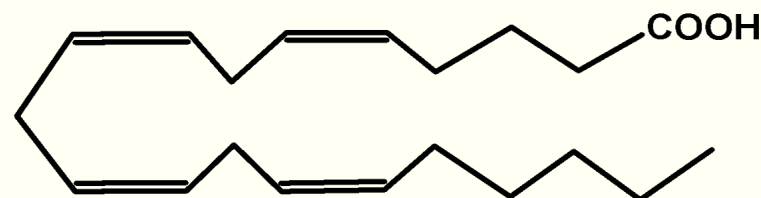
олеиновая  
18:1 $\omega$ 9

n-3



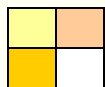
докозагексаеновая  
22:6 $\omega$ 3  
рыба

n-6

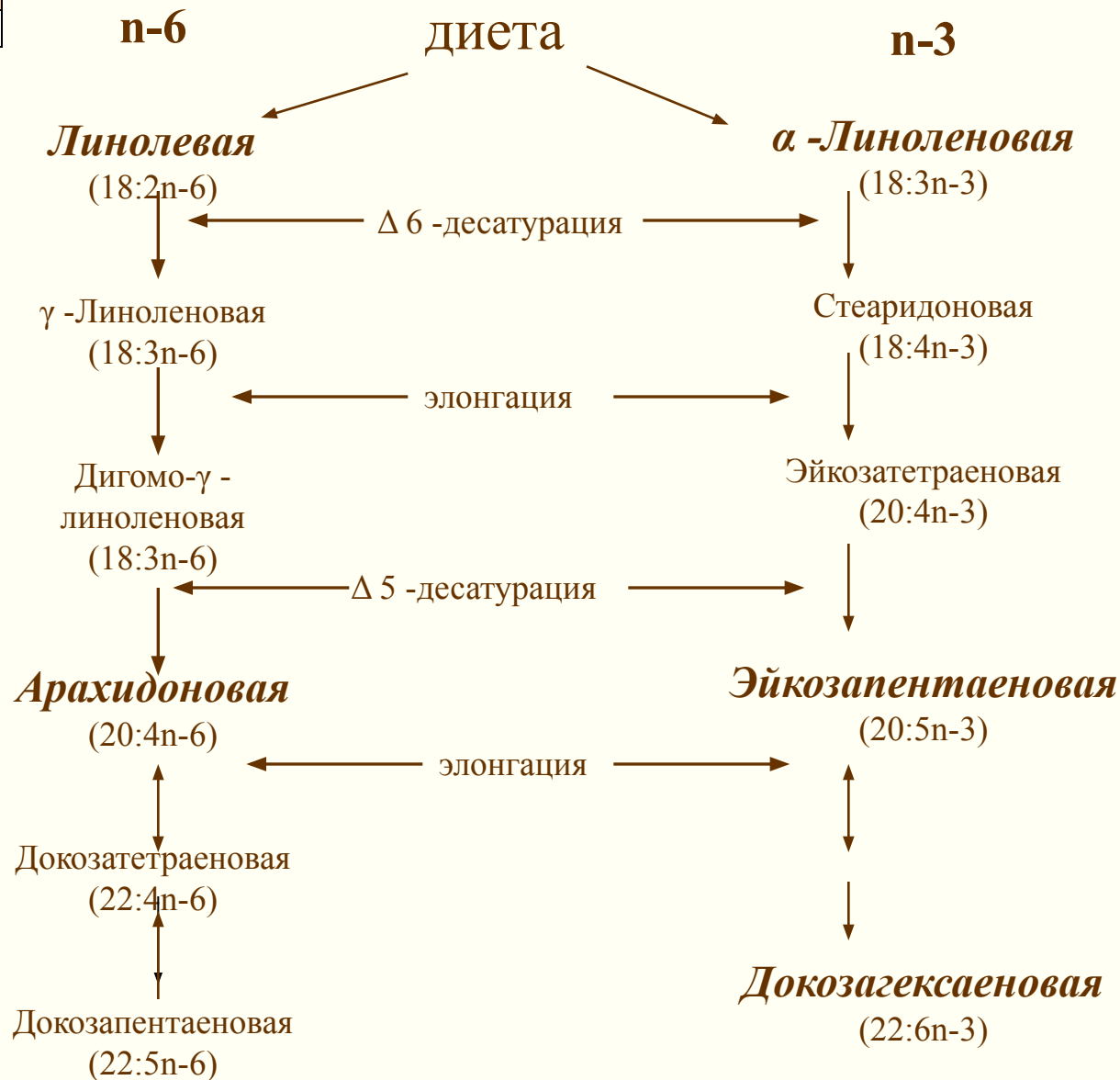


арахидоновая  
20:4 $\omega$ 6  
мясо, яйца

Сердечно-сосудистые заболевания, воспаление, травмы мозга  
психозы, шизофрения, нейродегенеративные заболевания



# Синтез ненасыщенных жирных кислот



Тромбоциты:  
[AA]<sub>o</sub> = 5 мМ

1% - 50 μМ (св)

Лейкоциты:  
0,1-1 μМ (св)

Островки Лангерганса:  
15 μМ (св)

[AA]<sub>внекл</sub> = 1-10 μМ

ДНА~50% клетки мозга

## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

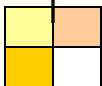
### Молекулярная эволюция элонгаз и десатураз человека

	ELOVL1	ELOVL2	ELOVL4	ELOVL5	ELOVL7	ELOVL3	ELOVL6	FADS1	FADS2	FADS3	FADS6
Homo sapiens	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Mus musculus	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Rattus norvegicus	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Canis familiaris	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Bos taurus	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Gallus gallus	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	no	1 protein	3 proteins	1 protein		1 protein
Danio rerio	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	no	1 protein	1 protein			1 protein
Takifugu rubripes	1 protein	no	1 protein	1 protein	1 protein	no	1 protein	no			1 protein
Ciona intestinalis			2 proteins			1 protein		1 protein			
Strongylocentrotus purpuratus			1 protein			2 proteins		2 proteins		no	
Drosophila melanogaster			2 proteins			1 protein		no			
Anopheles gambiae			2 proteins			1 protein		no			
Apis mellifera			3 proteins			1 protein		no			
Tribolium castaneum			3 proteins			1 protein		no			
Caenorhabditis elegans			3 proteins					2 proteins			
Saccharomyces cerevisiae			3 proteins					no			
Schizosaccharomyces pombe			2 proteins					no			
Dictyostelium discoideum			2 proteins					3 proteins			
Arabidopsis thaliana			2 proteins					2 proteins			
Trypanosoma cruzi			1 protein			2 proteins		1 protein			
Entamoeba histolytica			no					no			
Encephalitozoon cuniculi			no					no			

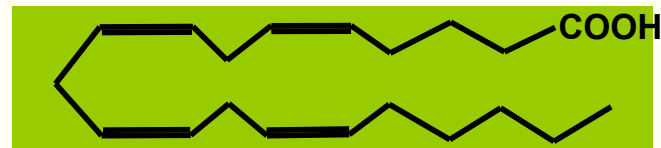
## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

### Сигнальные эффекты липидных медиаторов

- 1) сигнал проводится через классические G-белок связывающие рецепторы плазматических мембран;
- 2) сигнал проводится через различные внутриклеточные мишени:
  - а) глутатион;
  - б) белки-участники проведения внутриклеточных сигналов (например, модуляция арахидоновой кислотой активности протеинкиназы C);
  - в) G-белок связывающие рецепторы, локализованные на ядерных мембранах;
  - г) факторы транскрипции, которые связываются с нуклеиновыми кислотами и регулируют экспрессию клеточных белков.



# Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы



NSAIDs

*PGH-синтаза*  
(циклооксигеназа)

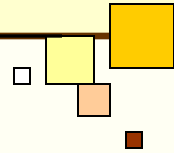
$PGH_2$

*PG синтазы*

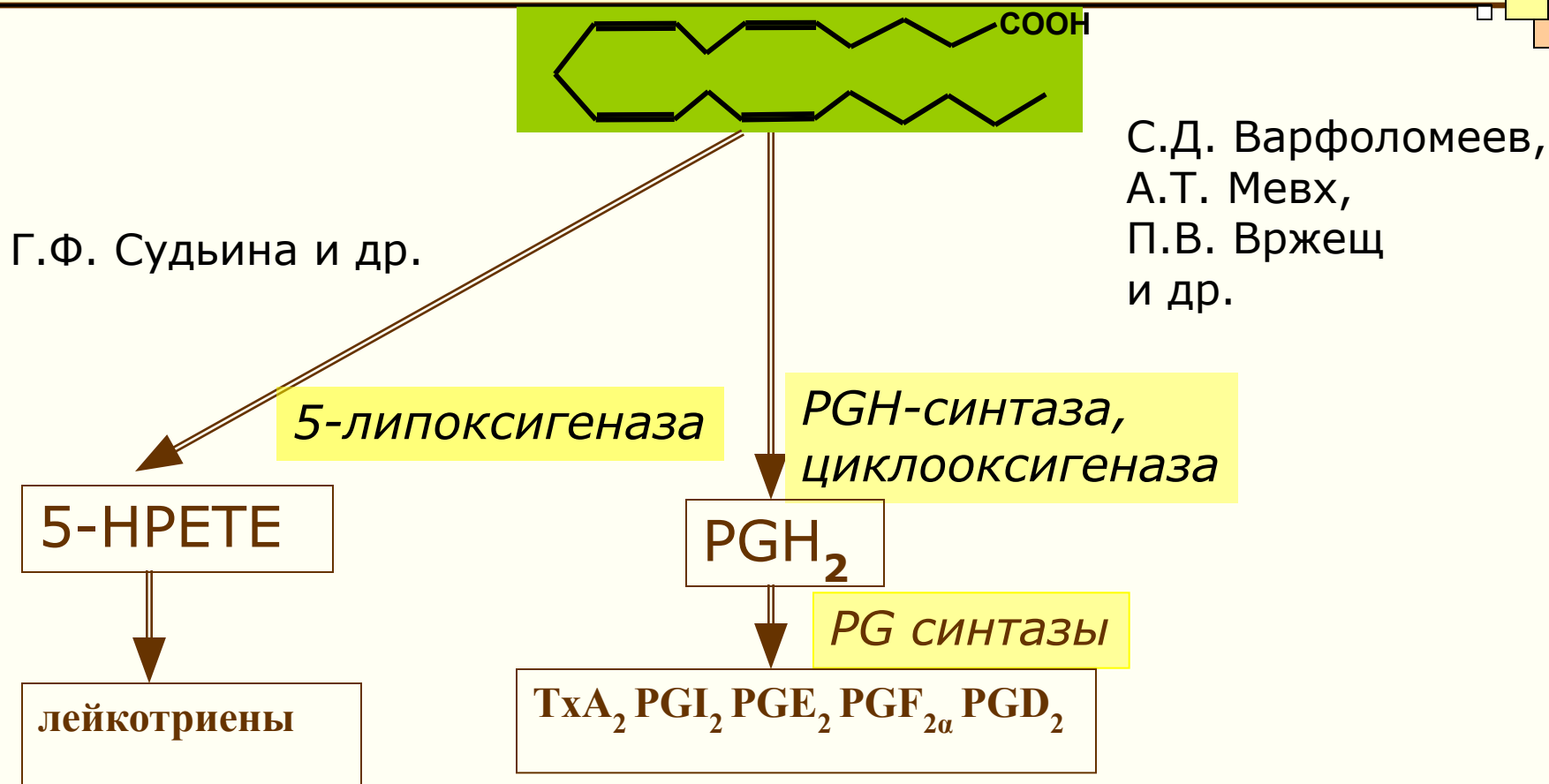
$TxA_2$   $PGI_2$   $PGE_2$   $PGF_{2\alpha}$   $PGD_2$

Агрегация тромбоцитов и др. эффекты

С 1978 г.  
С.Д. Варфоломеев,  
А.Т. Мевх,  
Г.Ф. Судьина,  
П.В. Вржещ  
и др.

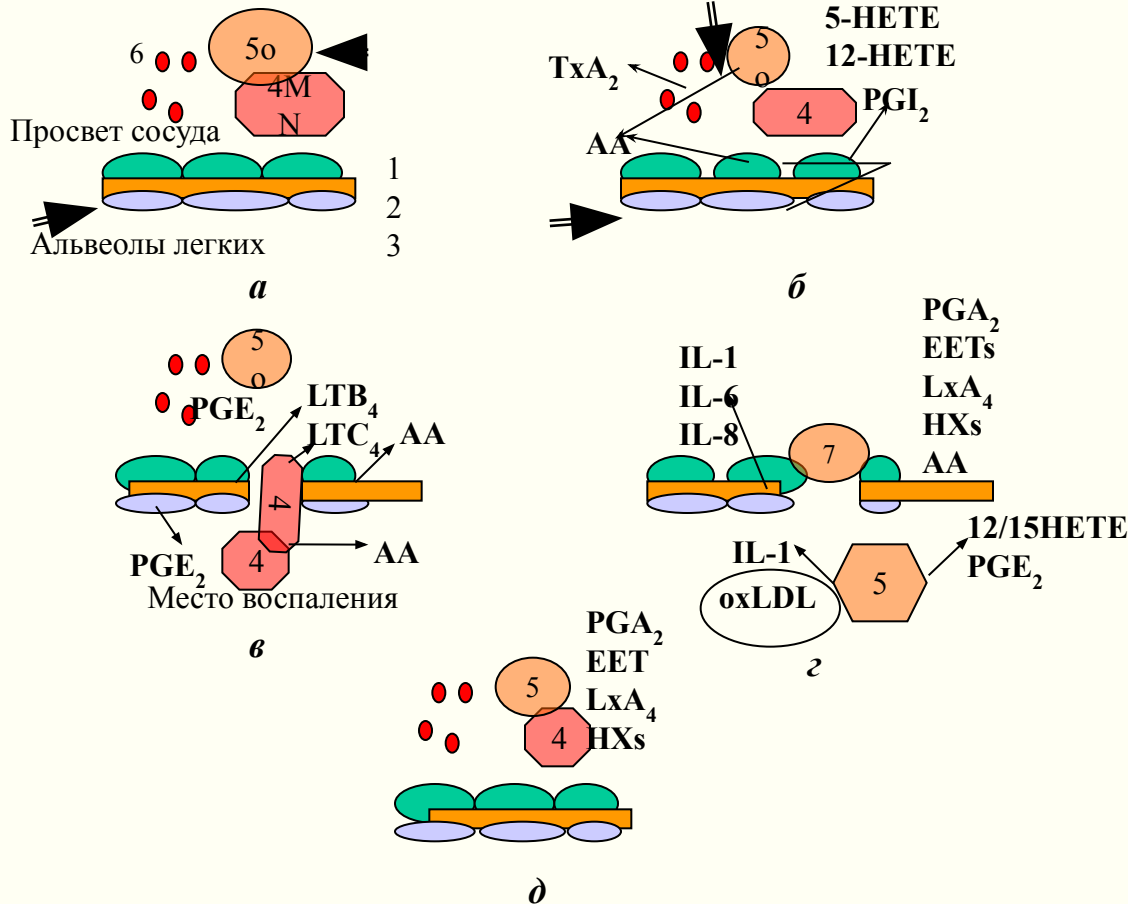


## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы



# 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

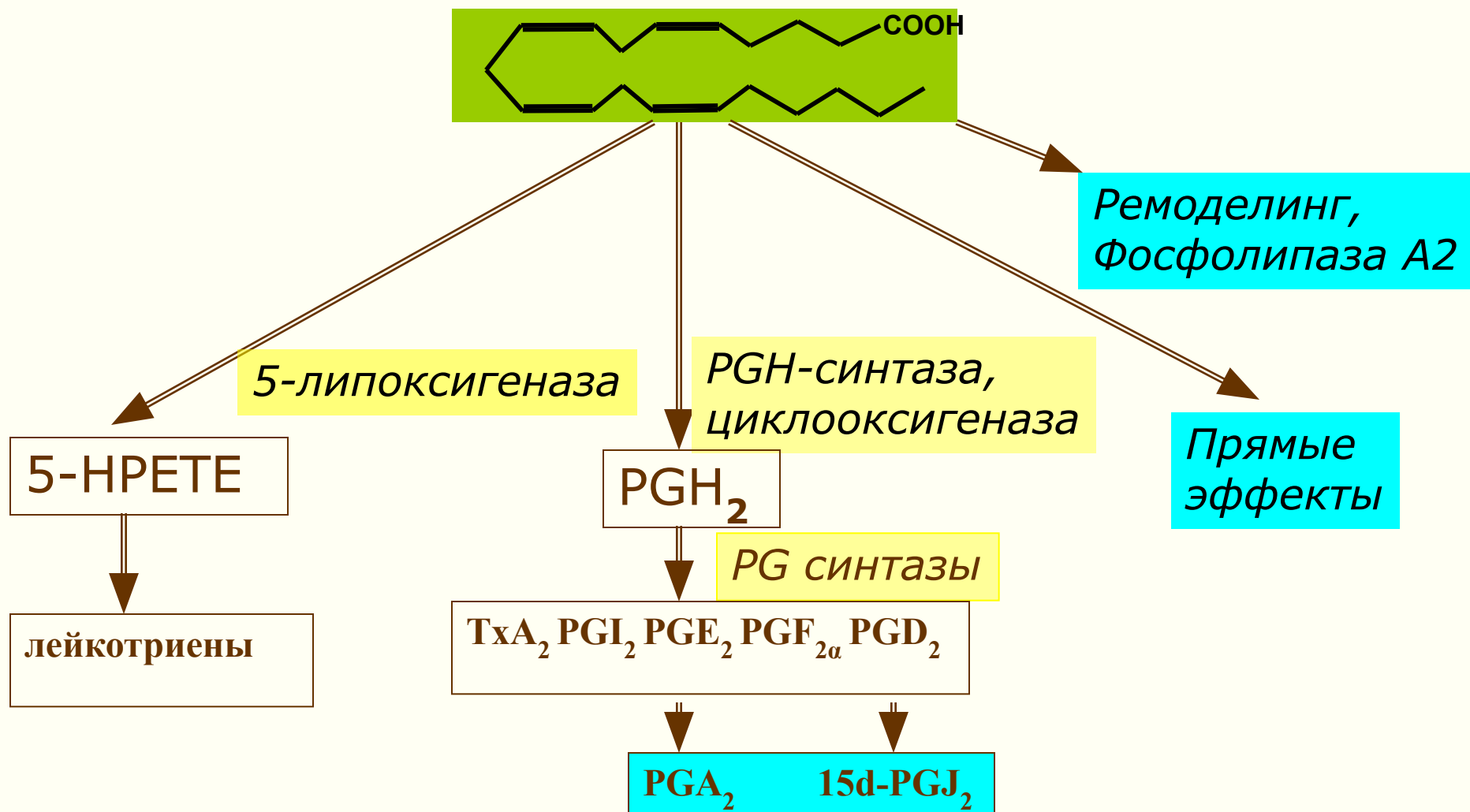
Физическое воздействие,  
Тромбин,  $TNF\alpha$ , АФК,  $IL-1\beta$



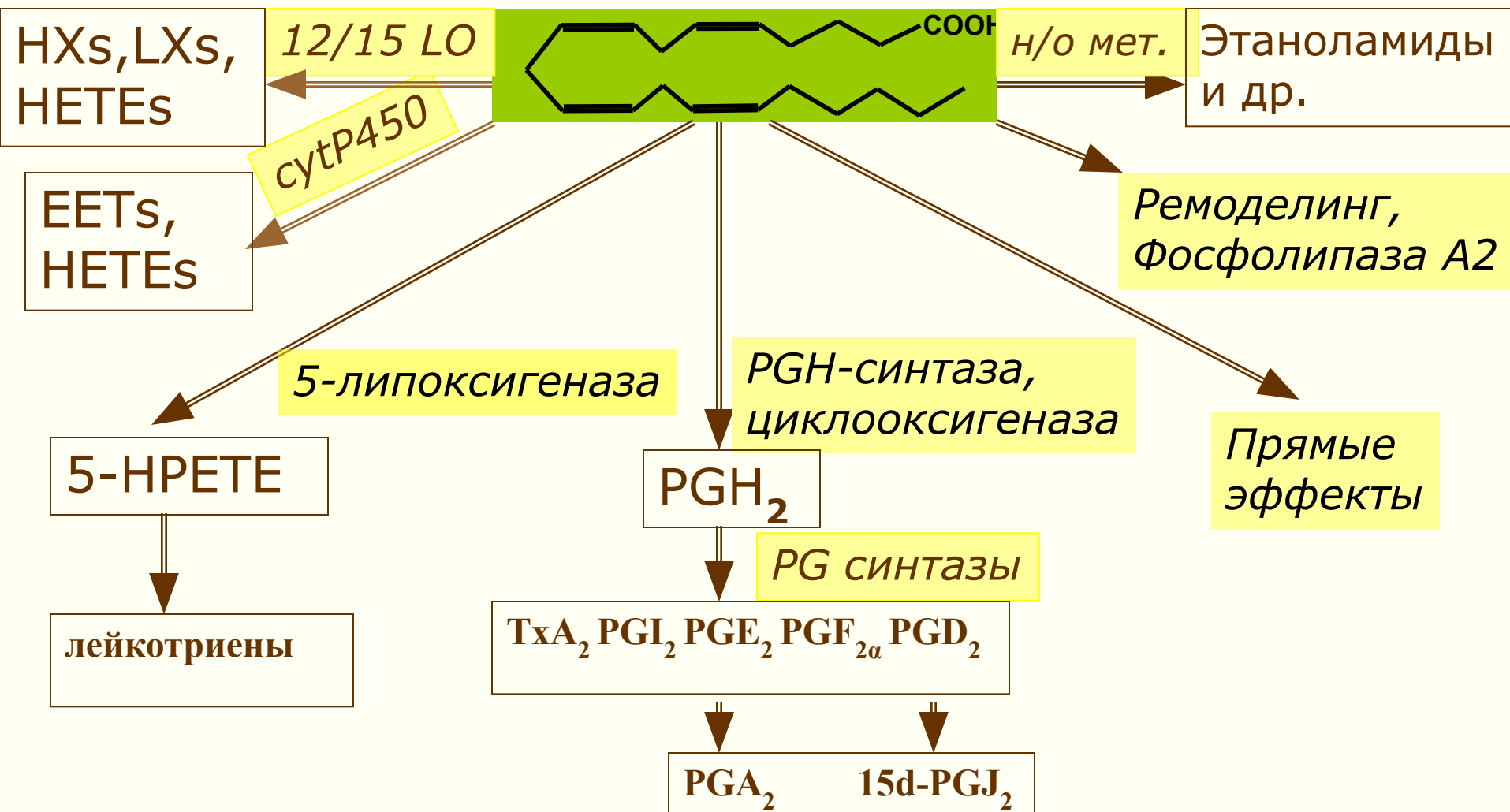
Участие  
компонентов  
каскада  
арахидоновой  
кислоты  
в регуляции  
воспалительного  
процесса в легких



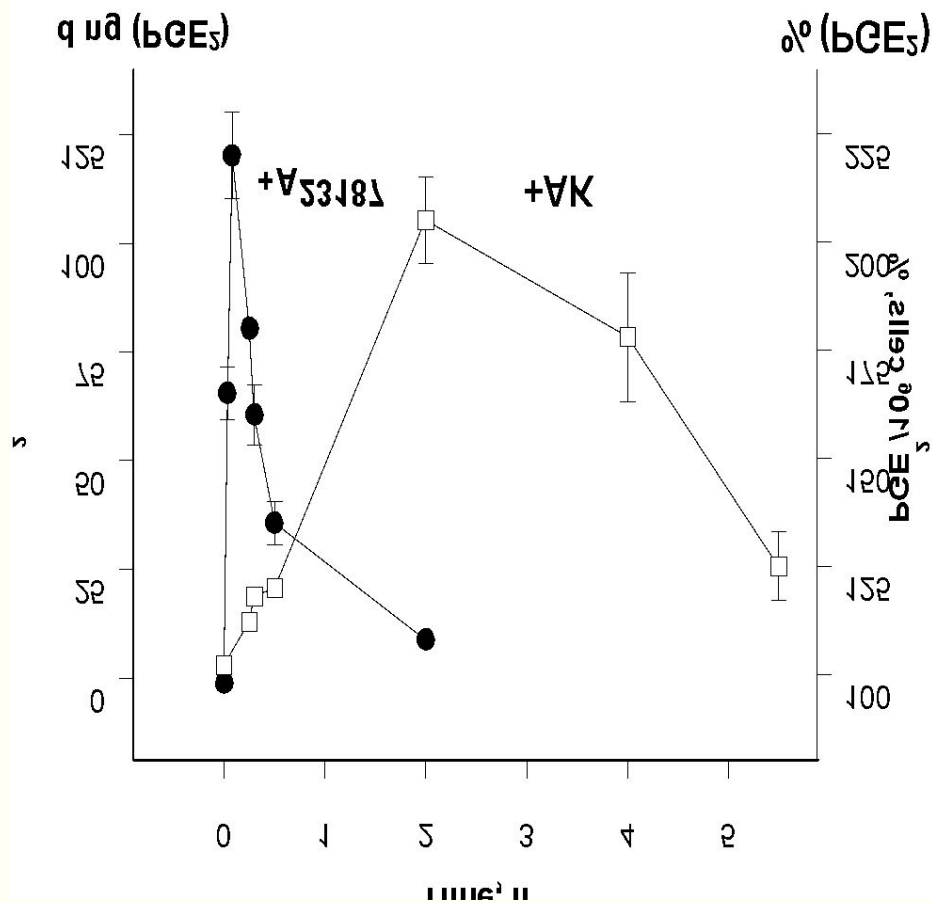
## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы



## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы



## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

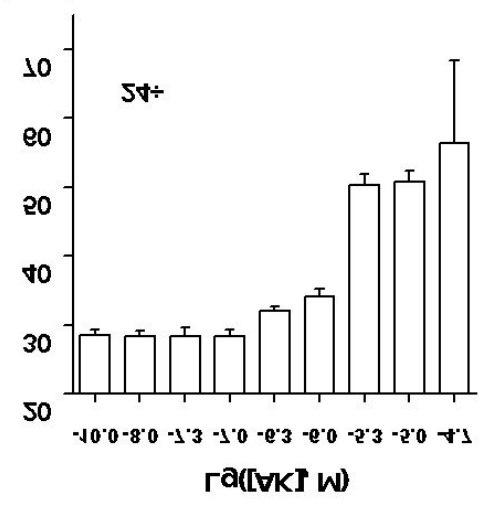
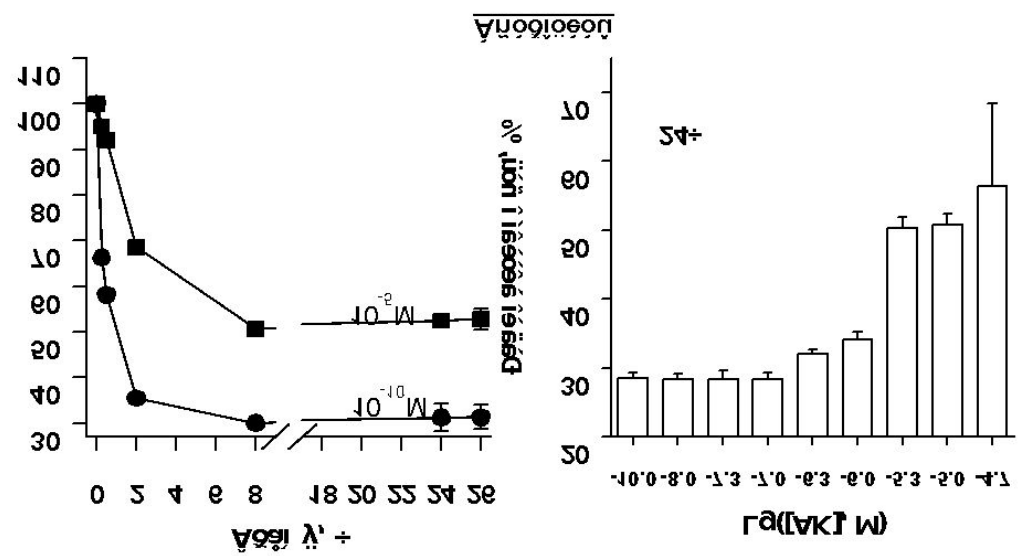
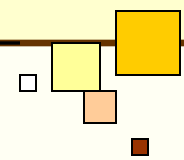


5  $\mu\text{M}$  A23187; 10  $\mu\text{M}$  АК

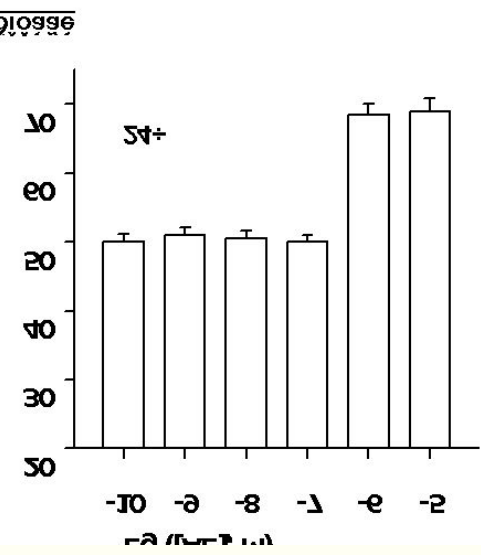
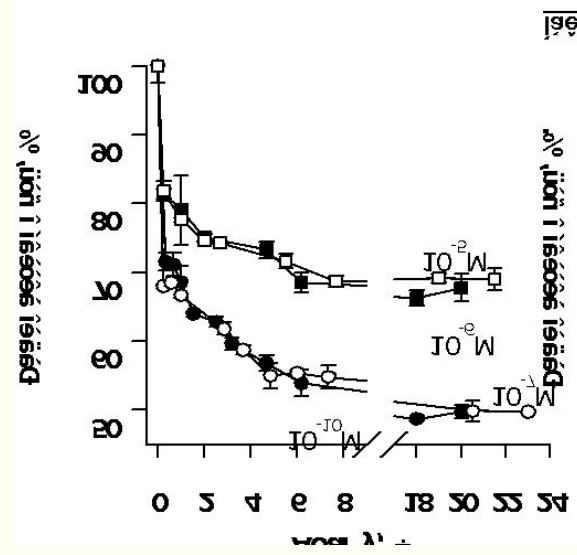
Источники арахидоновой кислоты (АК) при синтезе простаноидов макрофагами

- Эндогенная АК (из внутриклеточных пулов) - субстрат РGN-синтазы;
- Экзогенная АК - регулятор синтеза простаноидов.

# 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы



Новое равновесие в клетках при микромолярных концентрациях арахидоновой кислоты во внеклеточной жидкости

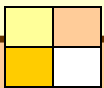


## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

### Экзогенная арахидоновая кислота как регулятор клеточных функций

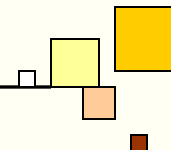
- как меняется чувствительность клеток к провоспалительным веществам в присутствии экзогенной арахидоновой кислоты (1-10  $\mu\text{M}$ )?
- как арахидоновая кислота влияет на метаболизм внутриклеточной арахидоновой кислоты и синтез простагландинов?
- как взаимосвязаны арахидоновая, докозагексаеновая и другие полиеновые жирные кислоты в регуляции функций клеток?
- как арахидоновая кислота влияет на  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в клетках?

## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы



### *АСТРОЦИТЫ – удобная модель:*

- **имеют рецепторы к нейротрансмиттерам**  
(гистамин, аденозин, АТФ, ацетилхолин и др);
- **синтезируют при активации TNF- $\alpha$ , интерлейкины, АТФ и др.;**
- **синтезируют 20:4n-6 и 22:6n-3 кислоты, простагландины;**
- **физиологические концентрации агонистов вызывают осцилляции  $[Ca^{2+}]_i$  ; блокада осцилляций разобщает связь между клетками**

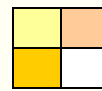
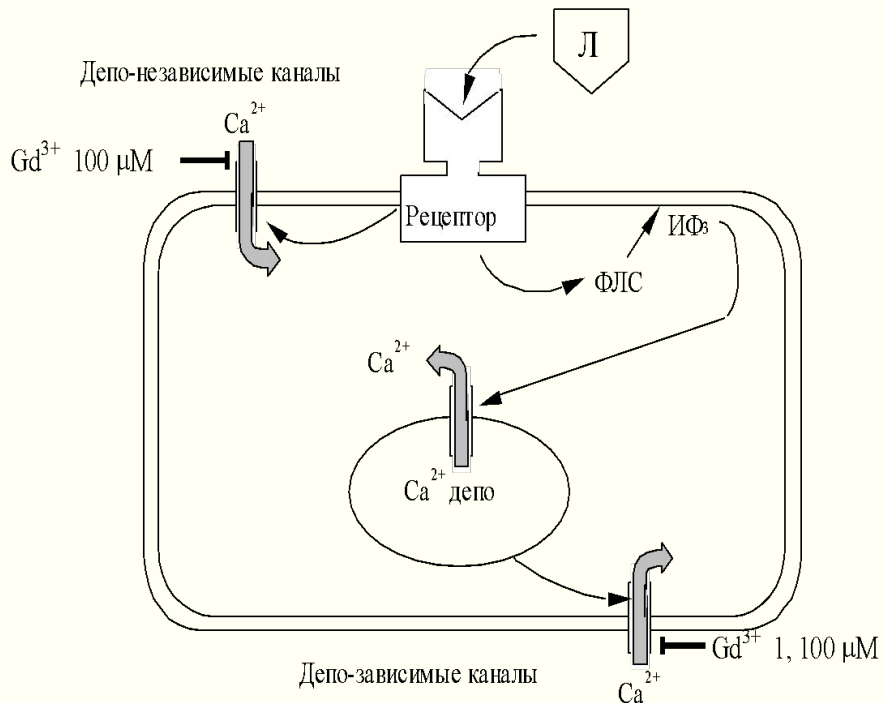


Астроциты как активные партнеры во взаимосвязи с нейронами и эндотелиальными клетками сосудов

# 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

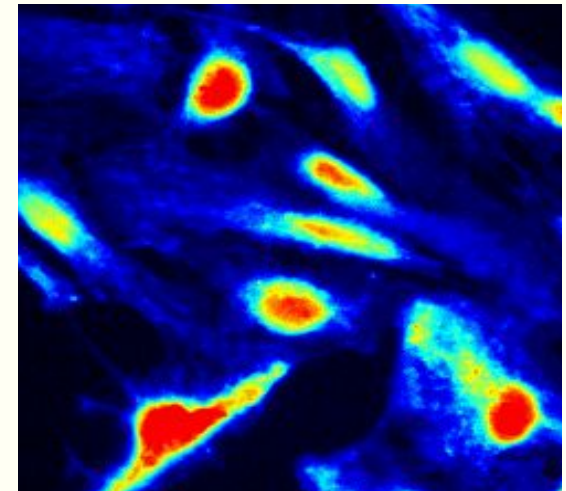
## Регуляция концентрации внутриклеточного кальция в астроцитах

Пути появления  $\text{Ca}^{2+}$  в цитоплазме клеток при активации рецепторов



ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Сравнить специфичность действия  
внеклеточных кислот (20:4n-6,  
20:5n-3, 22:6n-3)  
на  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в астроцитах

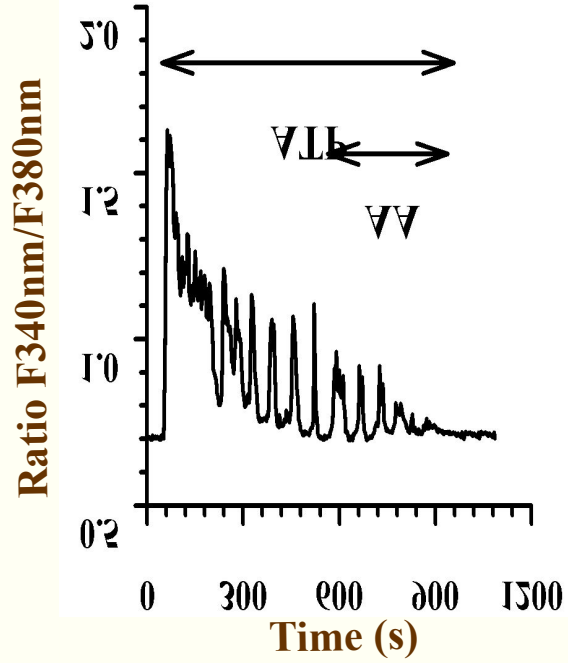


# 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

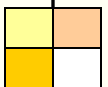
**Экзогенная арахидоновая кислота:**  
**блокирует осцилляции  $[Ca^{2+}]_i$  ;**

**AA=DHA=EPA**

**астроциты**



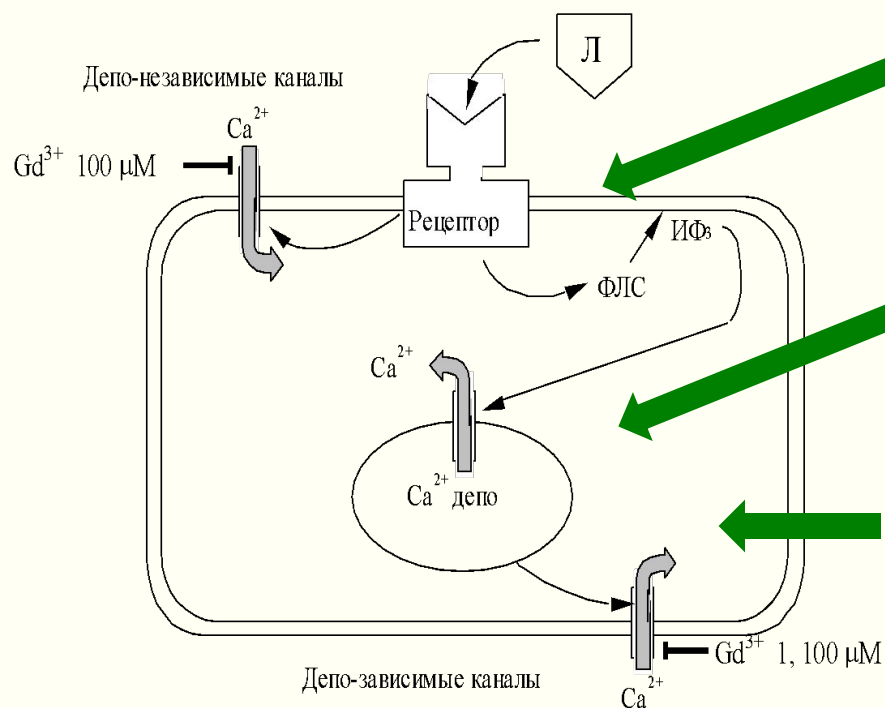
*Sergeeva M. et al (2003) Cell Calcium. 33(4)283*





# 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

## Влияние ПЖК на вход кальция



**Первичный ответ на действие агониста (амплитуда ответа) снижается**

+  $\text{Ca}^{2+}$  25% AA = DHA, 0% EPA

-  $\text{Ca}^{2+}$  25% AA = DHA, 0% EPA

**Содержание  $\text{Ca}^{2+}$  в депо (амплитуда) снижается**

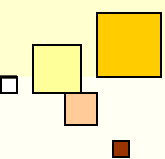
55% AA, 40% DHA, 0% EPA

**Депонезависимый вход  $\text{Ca}^{2+}$  (амплитуда) снижается**

Агонист: 65% AA, 45% DHA, 0% EPA

SERCA ингибиторы: 50% AA, 50% DHA, 30% EPA

# 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы



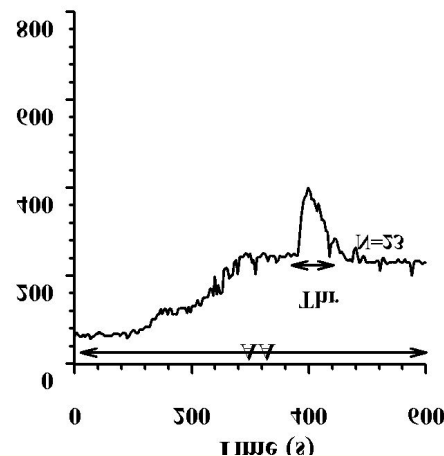
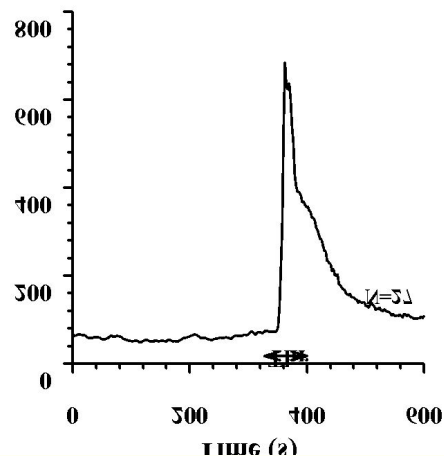
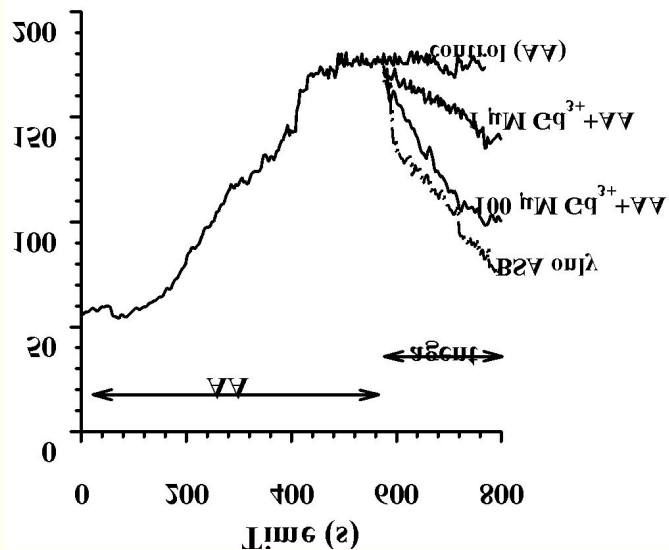
+  $Ca^{2+}$

$[Ca^{2+}]_i = 150$  nM AA=DHA

$[Ca^{2+}]_i = 60$  nM EPA

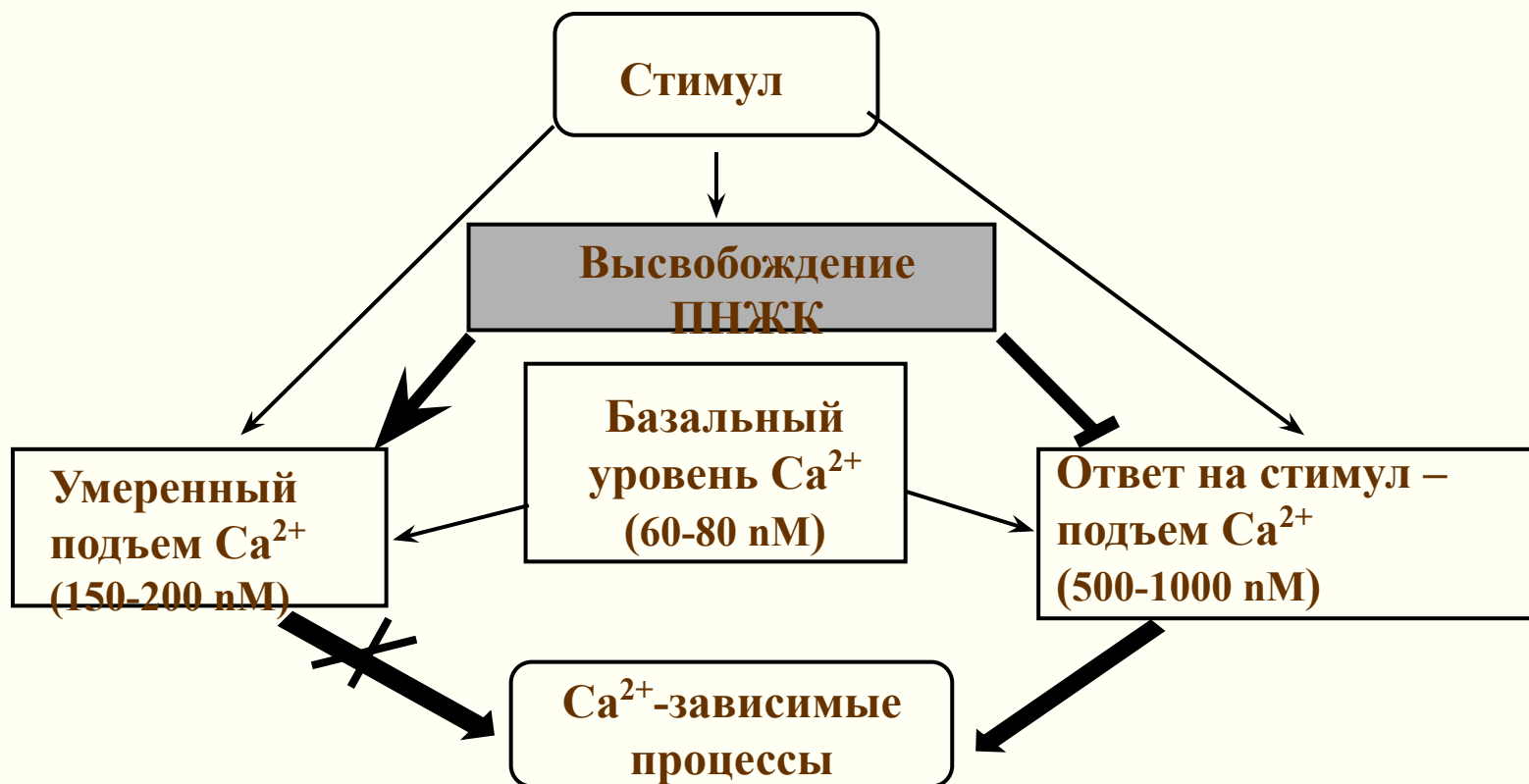
-  $Ca^{2+}$  не влияют

**УСТАНОВЛЕНИЕ НОВОГО УРОВНЯ  $[Ca^{2+}]_i$   
снижает чувствительность клеток к  
дальнейшему стимулированию  
AA=DHA > EPA**



## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

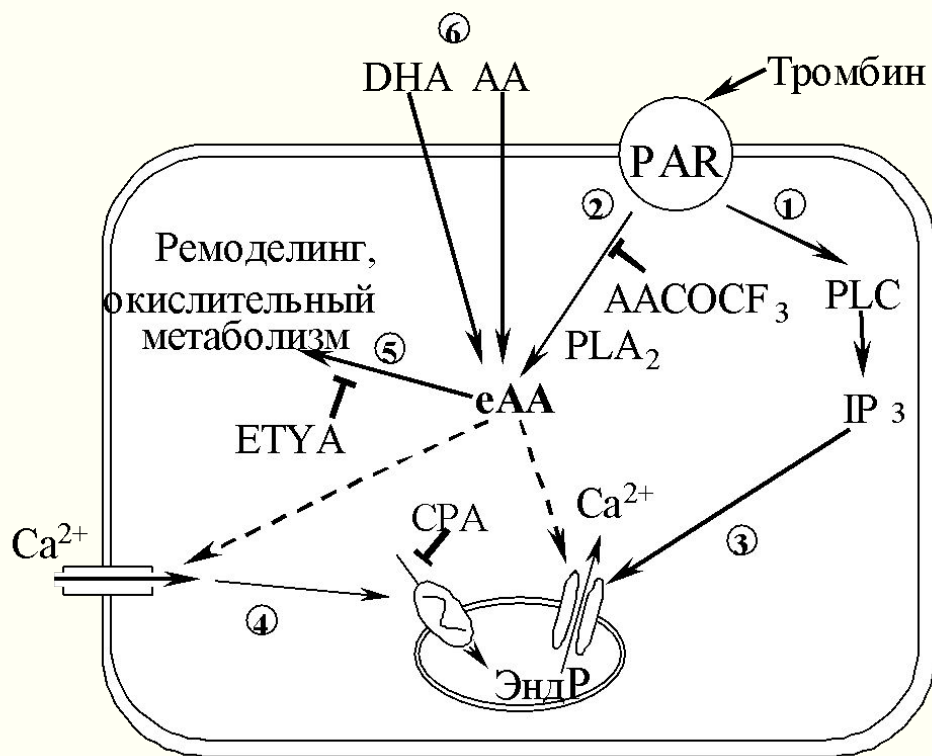
**ПЖК ПРИНИМАЮТ УЧАСТИЕ В УСТАНОВЛЕНИИ НОВОГО УРОВНЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ В АСТРОЦИТАХ – НЕЙРОПРОТЕКТОРНАЯ ФУНКЦИЯ**



- Как меняется система регуляции внутриклеточного кальция при воспалениях?

## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

Регуляция ПЖК внутриклеточного кальция в астроцитах



→  
**Экзогенные**

20:4n-6 (AA) и 22:6n-3 (DHA) кислоты **высвобождают эндогенную AA - положительная регуляция;**

→  
**Эндогенная AA** ингибирует агонист-стимулированный подъем **[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>** на стадиях входа кальция и его высвобождения из депо - **отрицательная регуляция.**

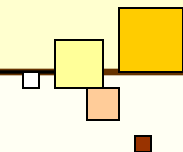


## 2. Арахидоновая кислота и другие полиеновые жирные кислоты как сигнальные молекулы

### Экзогенная арахидоновая кислота (АК) как регулятор клеточных функций

- меняется чувствительность клеток к провоспалительным веществам в присутствии экзогенных кислот ДГК (22:6n-3), АК (1-10  $\mu\text{M}$ ) - снижается;  
  
арахидоновая кислота влияет на  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  в астроцитах – нейропротекторная функция АК и ДГК;
- экзогенная АК влияет на метаболизм внутриклеточной АК и синтез простагландинов – активирует через высвобождение эндогенной АК, ДГК стимулирует высвобождение АК

# 3. Фосфолипаза A2



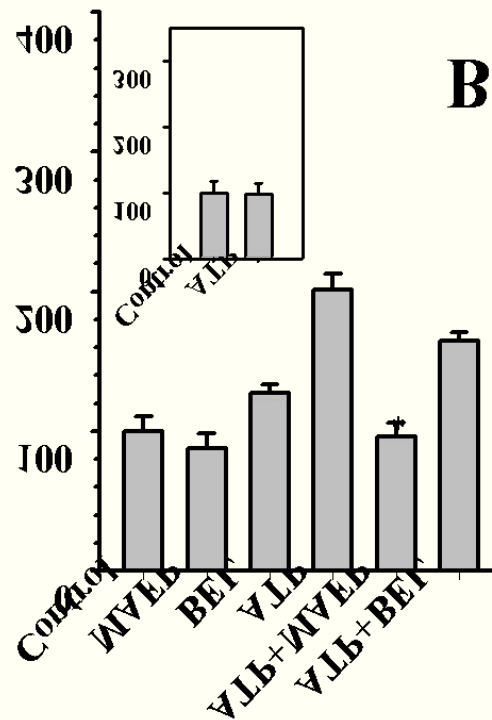
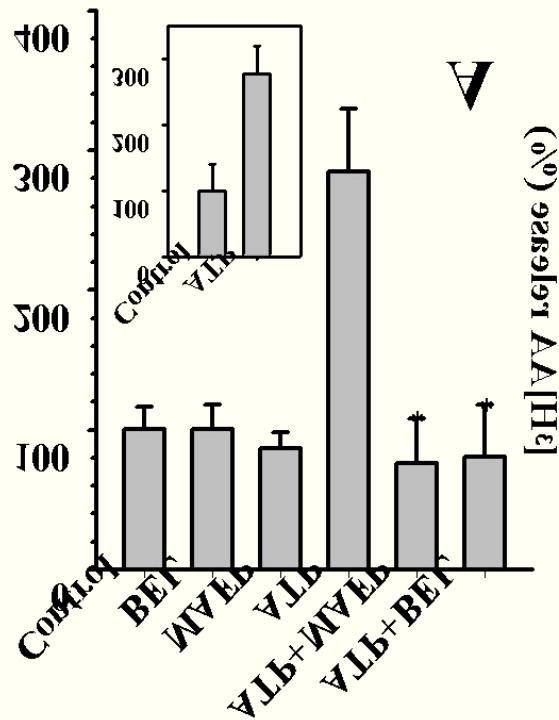
	PLA2G1B	PLA2G2A	PLA2G2E	PLA2G2D	PLA2G5	PLA2G2F	PLA2G10	PLA2G3	PLA2G7	PLA2G12A	PLA2G12B
Homo sapiens	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Mus musculus	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Rattus norvegicus	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	2 proteins	1 protein
Canis familiaris	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Bos taurus	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	2 proteins	1 protein	1 protein	1 protein
Gallus gallus	2 proteins	1 protein	1 protein	1 protein		no	no	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Danio rerio	1 protein	no	no	no	no	no	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Takifugu rubripes	2 proteins	no	no	no	no	no	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein	1 protein
Ciona intestinalis				2 proteins				no	2 proteins		no
Strongylocentrotus purpuratus				6 proteins				no	no		no
Drosophila melanogaster				1 protein				1 protein	no	1 protein	
Anopheles gambiae				1 protein				1 protein	no	1 protein	
Apis mellifera				1 protein				1 protein	no	1 protein	
Tribolium castaneum				1 protein				1 protein	1 protein	1 protein	
Caenorhabditis elegans				3 proteins				no	no		no
Saccharomyces cerevisiae				no				no	no		no
Schizosaccharomyces pombe				no				no	1 protein		no
Dictyostelium discoideum				no				no	no		no
Arabidopsis thaliana				no				no	no		no
Trypanosoma cruzi				no				no	1 protein		no
Entamoeba histolytica				no				no	no		no
Encephalitozoon cuniculi				no				no	no		no





# 3. Фосфолипаза A2

Какая фосфолипаза отвечает за высвобождение эндогенных ПЖК

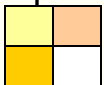
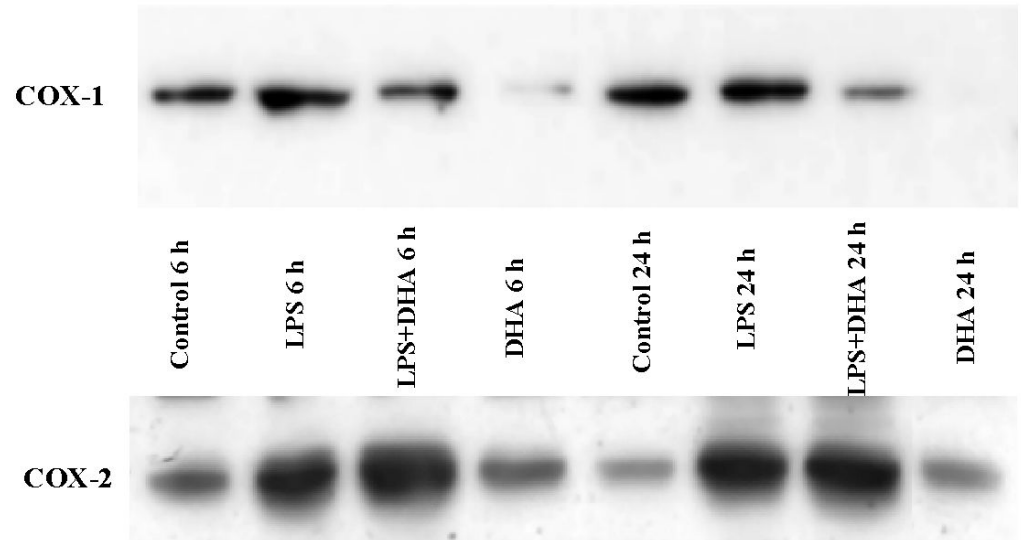
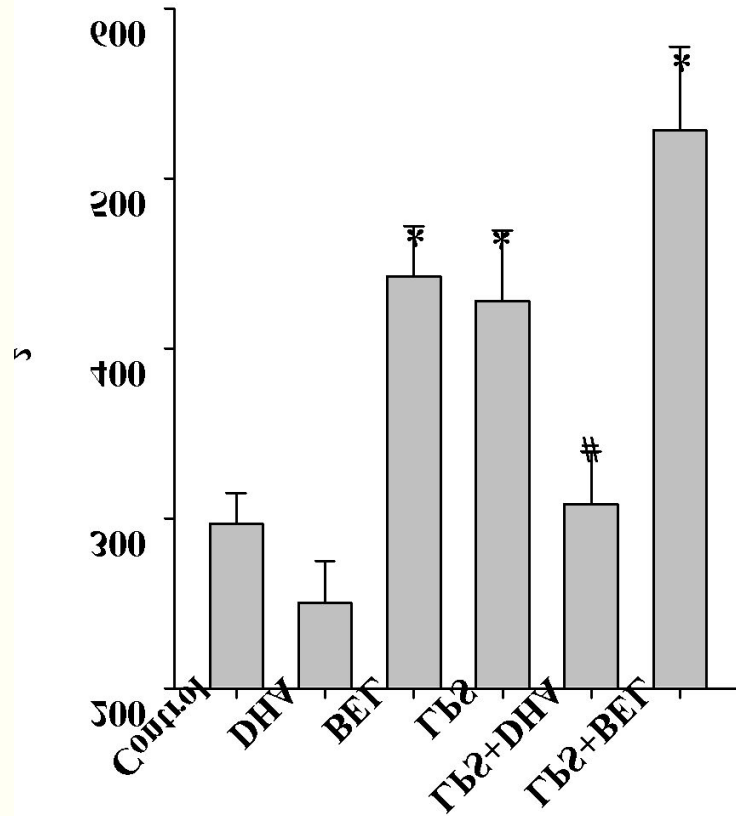


Высвобождение арахидоновой и докозагексаеновой кислот регулируются cPLA2 и iPLA2

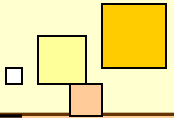


# 3. Фосфолипаза A2

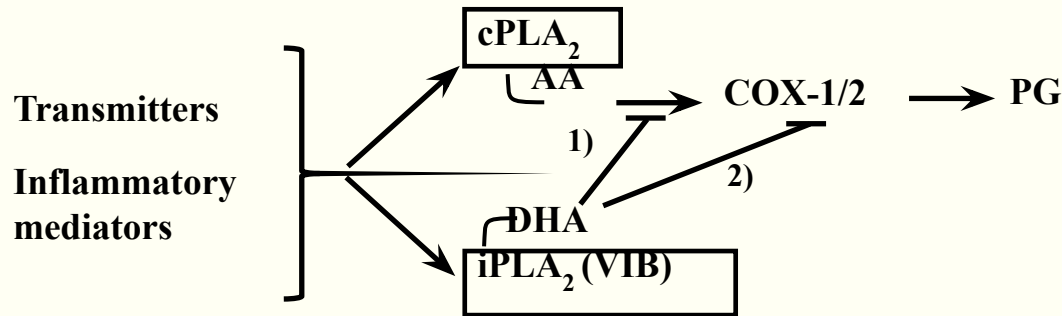
Экзогенная и эндогенная докозагексаеновая кислота ингибирует синтез простаноидов



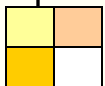
# 3. Фосфолипаза A2



## Новая функция iPLA2 (VIB) – регуляция синтеза простаноидов



- Как независимо регулировать активацию cPLA<sub>2</sub> и iPLA<sub>2</sub>?
- Какие изменения в активности ферментов происходят при патофизиологических процессах в мозге?



# 4. Ядерные рецепторы (PPARs)

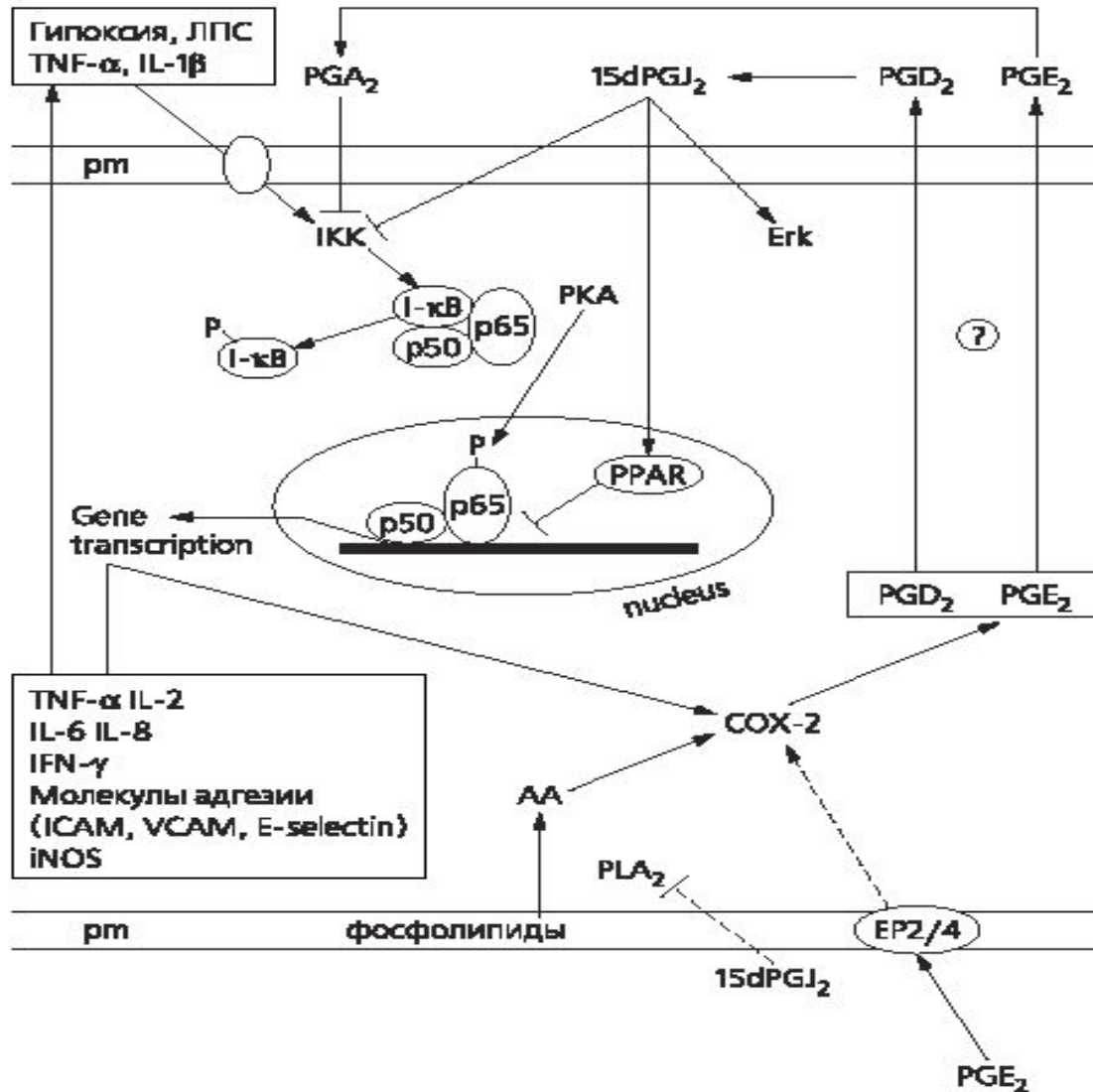
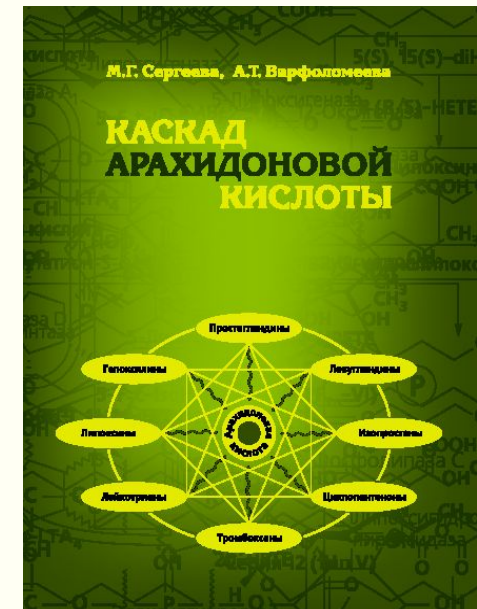


Рис. 9.5. Возможные пути реализации эффектов циклопентеновых простагландинов



# 4. Ядерные рецепторы (PPARs)

## Свойства PPAR

**PPARs – лиганд-чувствительные факторы транскрипции суперсемейства ядерных рецепторов. Известно:  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$ , and  $\gamma$**

**PPARs может образовывать гетеродимеры с рецепторами ретиноидной кислоты (RXRs), связываться с «PP-response elements» (PPRE) и регулировать транскрипцию различных генов (преимущественно активация)**

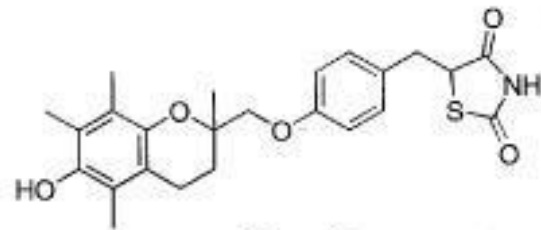
**PPAR $\gamma$  человека экспрессируется в адипоцитах, а также селезенка, мозг, печень, скелетные мышцы и др.**

**Природные и синтетические агонисты PPAR $\gamma$  регулируют дифференцировку адипоцитов, гомеостаз глюкозы, воспалительные ответы**

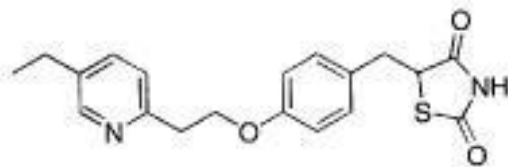
# 4. Ядерные рецепторы (PPARs)

## Структуры лигандов PPAR

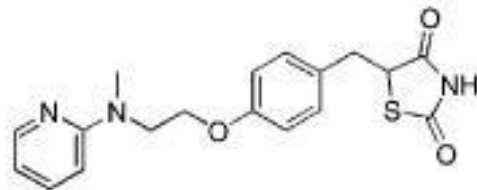
### Synthetic



Troglitazone

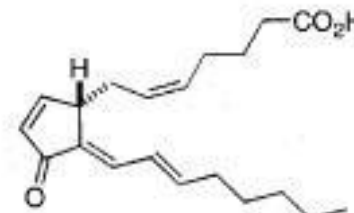


Pioglitazone

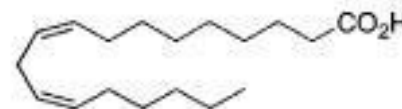


Rosiglitazone

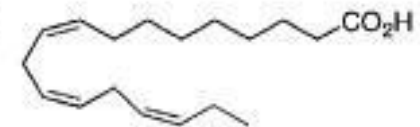
### Natural



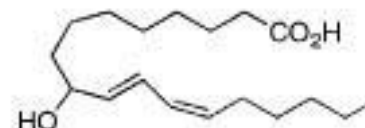
15d-PGJ<sub>2</sub>



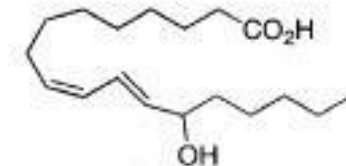
Linoleic acid



Linolenic acid

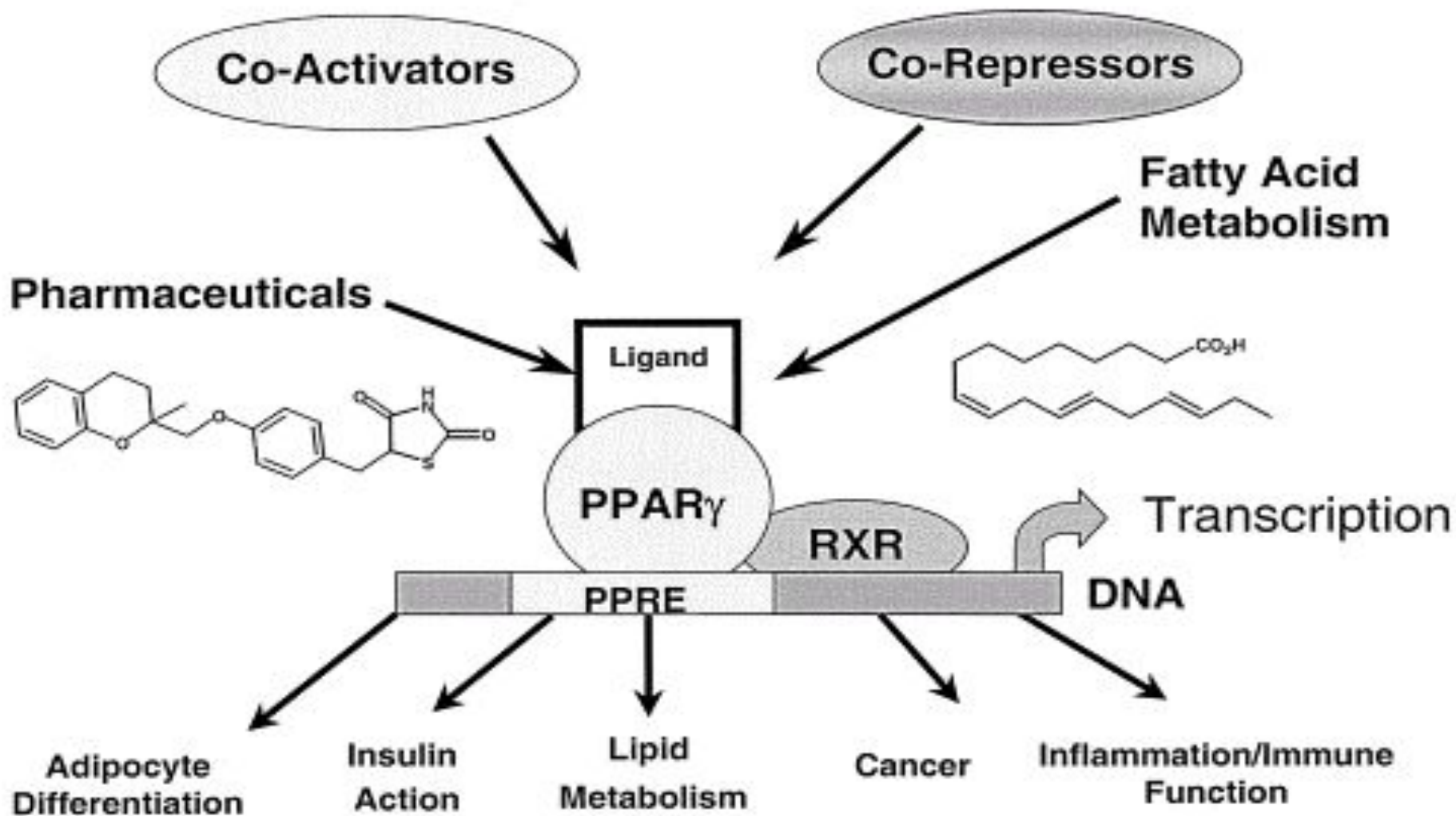


9-HODE

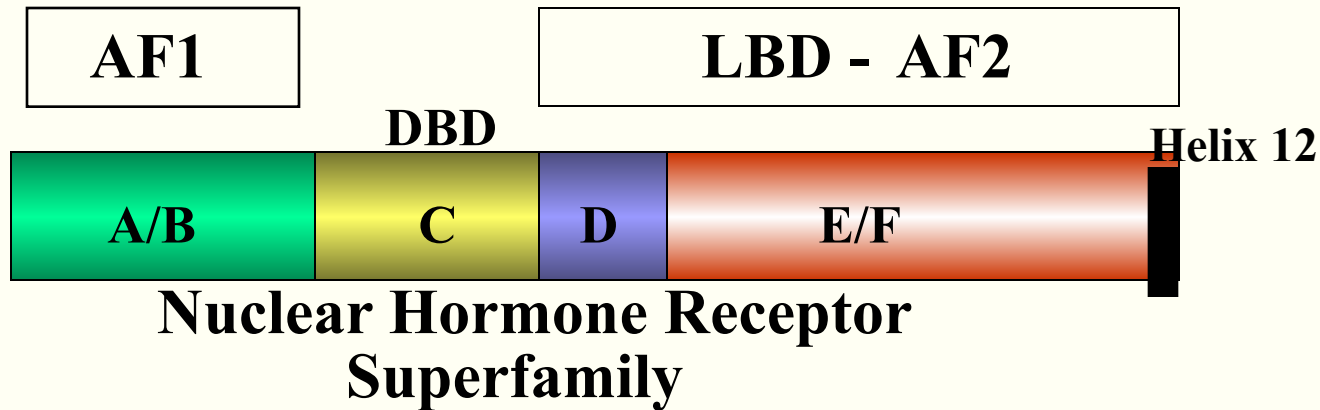


13-HODE

# 4. Ядерные рецепторы (PPARs)



# 4. Ядерные рецепторы (PPARs)



**Type I family**

**Steroid family**

**GR**

**PR**

**AR**

**MR**

**ER  $\alpha, \beta$**

**Type II family**

**Non-steroid family**

**TR  $\alpha, \beta$**

**RAR  $\alpha, \beta, \gamma$**

**VDR**

**RXR  $\alpha, \beta, \gamma$**

**PPAR  $\alpha, \gamma, \delta$**

**CAR, SXR/PXR**

**LXR  $\alpha, \beta$ , FXR**

# 4. Ядерные рецепторы (PPARs)

## Структуры лигандов ядерных рецепторов

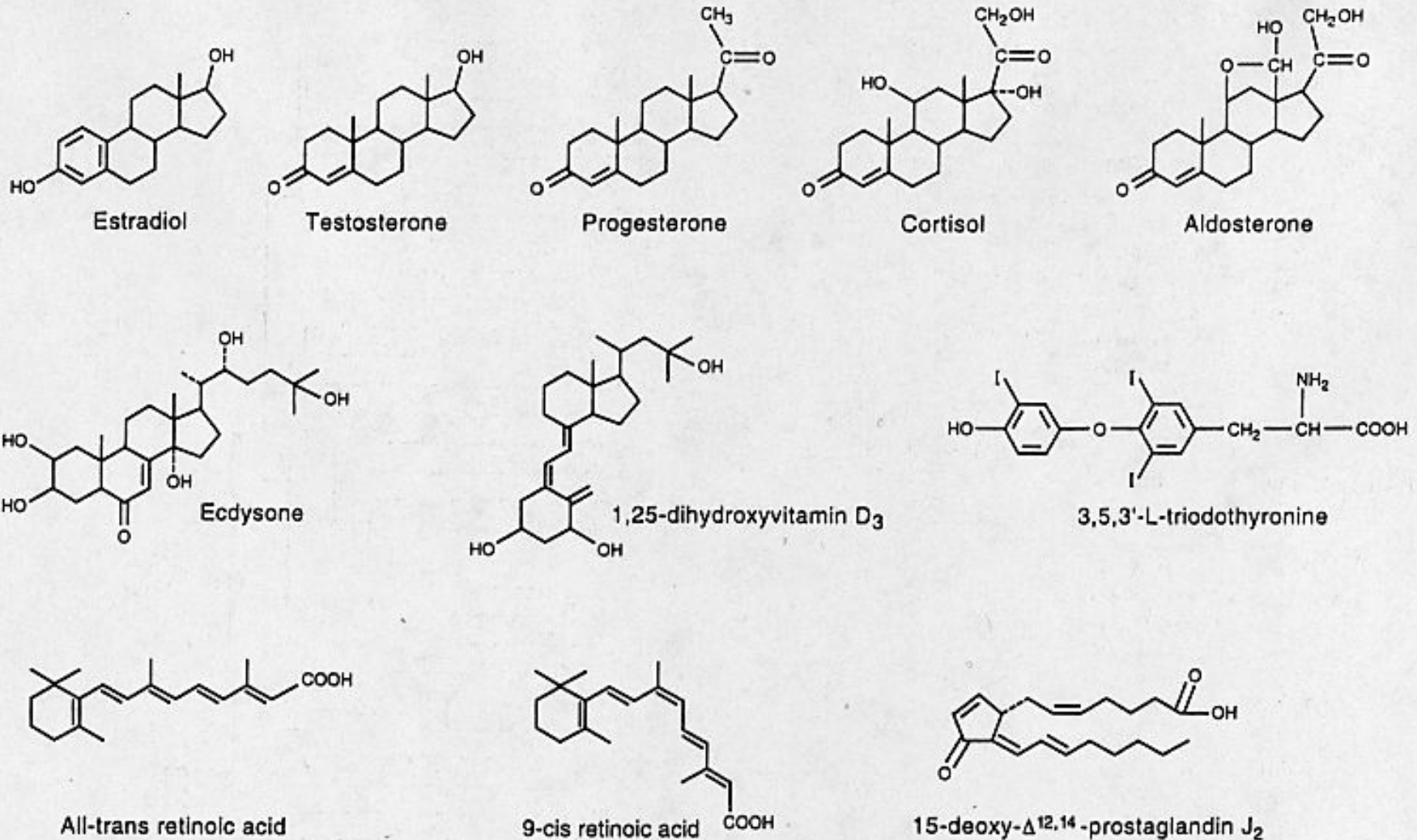


Figure 1. Structures of the Known Ligands for Nuclear Hormone Receptors



## 5. Использование биоинформатики и подходов системной биологии для анализа воспалительных процессов на уровне клеток

### Группа системной биологии липидов

- **Специализация:**

Молекулярная и клеточная биология липидов, биоинформатика, липидомика.

- **Задачи:**

- **Анализ воспалительного процесса на уровне клетки экспериментальными методами:**

- 1) исследование изменений спектра липидных сигнальных молекул в процессе эволюции у разных организмов;
- 2) анализ механизмов регуляции на уровне транскрипции и посттрансляционном уровне циклооксигеназ и фосфолипаз класса A2;
- 3) исследование PPAR, ядерного рецептора, который является ключевым липидным сенсором у млекопитающих

## 5. Использование биоинформатики и подходов системной биологии для анализа воспалительных процессов на уровне клеток

### Группа системной биологии липидов

**Задачи (продолжение):**

**Компьютерный анализ систем регуляторных липидов:**

- 1) анализ экспериментальных данных микроэррей, получаемых из разных баз данных;
- 2) поиск функциональных кластеров генов с использованием подходов липидомики и транскриптомики;
- 3) предсказание новых мишеней для сигнальных липидов и структуры новых липидподобных синтетических соединений для этих мишеней;
- 4) развитие подходов "-омик" для изучения системных заболеваний с нарушениями в системах сигнальных липидов;
- 5) развитие новых подходов для выделения модулей в сигнальных липидных каскадах с использованием методов биоинформатики.

# Общая схема подхода



# Группа системной биологии липидов

[www.lipidomics.ru](http://www.lipidomics.ru)

*Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского - Факультет  
биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва*

**М.Г. Сергеева**

**А.Т. Мевх**

**С.А. Грабеклис**

**С.Е. Алёшин**

**Н.В. Толмачёва**

**А.Е. Ивлиев**

---

*Университет Отто-фон-Герике*

*Магдебург, Германия*

---

**Георг Райзер**

**Михаил Строкин**

---

*Институт биохимической  
физики им. Н.М. Эмануэля*

**Ю.Каратассо**

**С.Д.Варфоломеев**

*Центр по химии лекарственных средств – ВНИХФИ*      **В.В. Чистяков**