

29. **Александрова С.А., Никонов П.О., Нащекина Ю.А.** Характеристика остеоиндуктивных свойств полилактидных матриц. Сборник статей VI-го Международной научно-практической конференции «Физиология и медицина. Исследования, высокие технологии, стартапы». СПб, изд-во Политехн. ун-та, 2014: 199-201.
30. **Кафтырев А.С., Сердобинцев М.С., Линник С.А., Марковиченко Р.В.** Биоситалл в хирургии туберкулеза костей и суставов. Травматология и ортопедия России. 2010, (1): 28-32.
31. **Сердобинцев М.С., Кафтырев А.С., Бердес А.И., Луцкая О.Л.** Пластика дефектов кости остеозамещающими материалами в хирургии туберкулезного коксита (клинико-экспериментальное исследование). Медицинский альянс. 2014, (1): 31-36.
32. **Сердобинцев М. С., Лобач В. Ю., Кафтырев А. С., Виноградова Т. И., Заболотных Н. В., Витовская М. Л., Луцкая О. Л., Искровский С. В.** Экспериментальное обоснование применения ксенотрансплантата Orthoss в хирургии костно-суставного туберкулеза. Туберкулез и болезни легких. 2015, (6): 135.
33. **Николаенко Н.С.** Восстановление хрящевой ткани с помощью клеточных технологий. В сб. «Клеточные технологии для регенеративной медицины» (под ред. Г.П.Пинаева, М.С.Богдановой, А.М.Кольцовой). – СПб, изд-во Политехн. ун-та, 2011: 162-178.
34. **Сахенберг Е.И., Николаенко Н.С., Пинаев Г.П.** Разработка клеточного продукта с использованием стромальных клеток костного мозга для восстановления хряща в зоне роста. Материалы докладов III Всероссийской научной школы-конференция «Стволовые клетки и регенеративная медицина», Москва. 2010: 66-67.
35. **Сахенберг Е.И., Быстрова О.А., Николаенко Н.С., Красногорский И.Н., Гаркавенко Ю.Е., Пинаев Г.П.** Сравнительное исследование влияния недифференцированных и дифференцированных в хондрогенном направлении стромальных клеток костного мозга на повреждённый ростковый хрящ в эксперименте. Материалы V Всероссийского симпозиума с международным участием «Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии». Уфа. 2012: 194-195.
36. **Копелев П.В., Александрова С.А., Никонов П.О., Нащекина Ю.А.** Использование полилактидных матриц для культивирования клеток хряща. Сборник трудов Всерос. науч.-практ. конф. «Фундаментальные и прикладные аспекты биотехнологии». Иркутск, изд-во ИРНИТУ, 2015: 220-228.

## РОЛЬ ЛИЗОФОСФАТИДИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В РЕГУЛЯЦИИ НОРМАЛЬНЫХ И ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

**Д.Е. Бобков**

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург; [bobkovde@yandex.ru](mailto:bobkovde@yandex.ru)

В обзоре представлены результаты исследований роли лизофосфатидиловой кислоты в регуляции нормальных и патологических процессов. Лизофосфатидиловая кислота (LPA) представляет собой фосфолипидный медиатор и играет важную роль в процессах воспаления

и заживления ран, что обусловлено её способностью регулировать различные клеточные функции, такие как миграция, пролиферация и дифференцировка. LPA действует на клетки как аутокринная или паракринная сигнальная молекула. Молекулы LPA взаимодействуют на поверхности клеток со специфическими G-белок связанными рецепторами, в результате чего активируется ряд внутриклеточных сигнальных каскадов, основным из которых является сигнальный путь Rho. Также LPA принимает участие в патогенезе ряда заболеваний, таких как атеросклероз, фиброз, респираторные расстройства и рак.

**Ключевые слова:** лизофосфатидиловая кислота, аутоксин, сигнальный путь Rho, канцерогенез.

Лизофосфолипиды являются производными мембранных фосфолипидов, которые синтезируются как в результате нормального липидного метаболизма, так и в ходе активации клеток под действием различных стимулов. Особый интерес вызывает LPA, которая выполняет роль вторичного посредника и участвует в разнообразных клеточных процессах, возникающих в ответ на широкий спектр стимулов [1]. В организме млекопитающих LPA представлена смесью насыщенных (16:0, 18:0) и ненасыщенных (16:1, 18:1, 18:2, 20:4) изомеров, которые обнаруживаются в различных биологических жидкостях [2]. Наиболее подробно охарактеризованным источником LPA в организме человека является сыворотка крови, где концентрация LPA составляет 1-5  $\mu\text{M}$ , а доли основных изомеров оцениваются как 18:2 (30%), 20:4 (39%) и 18:1 (9%). Поскольку суммарная концентрация LPA в свежей плазме крови здорового человека значительно меньше, чем в сыворотке, то считается, что в сыворотке LPA появляется в результате свёртывания крови, в частности, источником LPA в сыворотке являются тромбоциты [3]. Однако LPA не присутствует в тромбоцитах в готовом виде, а является продуктом ферментативного гидролиза мембранных фосфолипидов при помощи различных фосфолипаз. Основным предшественником LPA считается лизофосфатидилхолин, который присутствует в крови в достаточно высокой концентрации ( $\sim 190 \mu\text{M}$ ), в основном в связанной с альбумином или липопротеинами форме. При этом было показано, что диета непосредственно влияет на концентрацию в крови лизофосфатидилхолина, но не влияет на уровень LPA, что может говорить либо о высокой скорости обмена LPA, либо о наличии других путей её синтеза [4]. Другим предшественником LPA может быть фосфатидная кислота, которая в незначительных количествах присутствует

во всех клеточных мембранах [5]. Предполагается, что гидролиз фосфатидной кислоты может осуществляться в плазматической мембране или в цитоплазме клеток при помощи фосфолипаз  $A_1$  и  $A_2$ , а внутриклеточная LPA может секретироваться. Однако прямые доказательства секреции LPA какими-либо типами клеток *in vivo* на сегодня отсутствуют [6]. Наиболее подробно охарактеризовано образование LPA в ходе отщепления от лизофосфатидилхолина холиновой группы при помощи фосфолипазы D (ENPP2), иначе называемой аутотаксином (ATX). ATX может находиться как в мембранно-связанном состоянии, так и в растворённой форме в плазме крови [7].

В норме LPA – это фактор выживания клеток, который поддерживает их нормальную пролиферацию, жизнеспособность, синтез факторов роста. Выделение LPA в очагах воспаления стимулирует фибробласты к выполнению их функций, связанных с заживлением ран и ангиогенезом. LPA взаимодействует на поверхности клеток с семейством G-белок связанных трансмембранных рецепторов (LPARs), которые активируют широкий спектр внутриклеточных сигнальных каскадов. Одним из основных белков, активируемых при действии LPA, является малая ГТФаза семейства Rho. Активация Rho пути вызывает реорганизацию актинового цитоскелета клеток [8]. В частности, было показано, что LPA-зависимая активация Rho пути в мышечных клетках приводит к сборке сократимых актомиозиновых филаментов стресс-фибрилл [9].

При анализе экспрессии генов в эмбриональных фибробластах мыши было обнаружено, что LPA индуцирует гены, вовлечённые в стимуляцию роста и реорганизацию цитоскелета, а также ряд генов, кодирующих секретлируемые факторы, включая хемокины, факторы роста, цитокины, проангиогенные и профиброзные факторы, компоненты системы активатора плазминогена и металлопротеиназы. Через 30 мин воздействия LPA активируются гены раннего ответа, включающие *Edn1* (эндотелин 1), *Fgf16*, *Nfkb1a* (ингибирующая субъединица NF-κB) и несколько генов протеинкиназ (*Bmp2k*, *Plk2*, *Tesk2*, *Pim1*). На более поздних сроках активируется набор LPA-специфичных генов, ассоциированных с цитоскелетом, особенно гены, кодирующие различные изоформы актина, палладин, винкулин, *Agr2/3*, кальпонины, Rho ГТФазу, Rho-киназу, миозин X и субъединицы интегринов [10].

В экспериментах на клеточных культурах было показано, что путь Rho/ROCK вовлечён в продукцию протеолитических ферментов, приводящих к LPA-индуцированной инвазии клеток рака яичника. LPA вызывает экспрессию матриксной металлопротеиназы MMP-9 в клетках

линий CAOV-3 и PA-1 [11]. Показано, что предобработка этих клеток ингибитором Rho/ROCK (Y-27632) значительно снижает в них LPA-индуцированную экспрессию протеолитических ферментов. Кроме того, Y-27632 снижает LPA-индуцированную активацию транскрипционного фактора NF-κB, что критично для экспрессии протеолитических ферментов и инвазии клеток. Таким образом, показан механизм, в котором LPA вызывает развитие рака яичников через координированную активацию сигнального пути Ras/Rho/ROCK/NF-κB и секрецию протеолитических ферментов. Тем не менее, несмотря на большое число данных, подтверждающих участие малых ГТФаз семейства Rho и Rho-киназ в регуляции актинового цитоскелета и их роль при онкогенной трансформации, конкретные молекулярные механизмы, вовлечённые в эти процессы, остаются неясными.

LPA активно вовлечена в патогенез различных заболеваний, таких как атеросклероз, респираторные расстройства и фиброзы [12]. Особую роль LPA играет в канцерогенезе, стимулируя развитие опухоли, инвазию и миграцию злокачественных клеток. Первые упоминания о LPA в связи с раковыми заболеваниями появились в начале 1990-х годов, когда было обнаружено, что LPA выявляется в биопсиях рака толстой кишки [13]. Синтезирующий LPA фермент аутоксин (ATX) был впервые описан, как «аутокринный фактор подвижности», секретируемый клетками меланомы [14]. Было показано, что повышенный уровень ATX связан с выработкой резистентности к химио- и лучевой терапии. Дальнейшие исследования подтвердили роль ATX и LPA в осуществлении ключевых для развития рака функций, включая выживание и пролиферацию клеток, инвазию, миграцию и неоваскуляризацию. На клеточных культурах было показано, что внесение высоких концентраций LPA способно отменять ингибиторный эффект микроокружения, заключающийся в подавлении роста и усилении апоптоза раковых клеток. Выяснилось, что LPA способна стимулировать клеточную пролиферацию, поэтому нарушения в путях сигналинга LPA могут многочисленными способами приводить к гиперпролиферации, вызывать онкогенез и метастазирование [15]. В течение последнего десятилетия были накоплены данные, свидетельствующие о роли LPA в инициации и развитии некоторых видов рака, таких как рак яичника, молочной и щитовидной желёз, простаты, кишечника и меланомы. Повышенный уровень LPA в сыворотке крови был обнаружен у пациентов с множественной миеломой [16].

В настоящее время идёт разработка лекарственных препаратов, регулирующих уровень LPA. Ингибиторы ATX используются для терапии рака, ведётся поиск новых лекарств на

основе таких ингибиторов. Так, группа Бриндли установила, что подавление активности АТХ снижает рост первичных опухолей молочной железы (до 70 %) [17]. Кроме того, ими было показано, что блокирование АТХ предотвращает метастазирование опухолей. АТХ вырабатывается не самими клетками рака молочной железы, а преимущественно окружающей молочную железу жировой тканью. По мере того как опухоль растет и вызывает воспаление в железе, жировая ткань вырабатывает все больше АТХ, усугубляя проблему. Тем не менее, метод блокирования эффектов лизофосфатидиловой кислоты позволил на 80 % сократить рост опухолей молочной и щитовидной желез.

Оценка уровня LPA в крови может применяться в клинической практике как диагностический признак при выявлении опухолей, в частности, при ранней диагностике рака яичника. Показано, что рак яичника характеризуется достоверным повышением содержания в сыворотке крови LPA по сравнению с таковым у практически здоровых женщин. Максимальные показатели LPA отмечены у больных со II-й и III-й стадией заболевания. Повышенное содержание LPA является фактором, способствующим повышению пролиферации и персистенции злокачественных клеток яичника, что указывает на прогрессирование злокачественного процесса и связано с ухудшением прогноза [18, 19].

Таким образом, приведённые в обзоре результаты исследований различных регуляторных эффектов сигнальной молекулы LPA свидетельствуют об её важной роли не только в нормальной жизнедеятельности клеток, но и во многих патологических состояниях, в частности в онкогенезе. Результаты подобных исследований могут использоваться в ранней диагностике ряда онкологических заболеваний, в оценке риска опухолевой прогрессии, а также в прогнозировании исхода заболевания.

### Список литературы

1. **Moolenaar W.H., Hla T.** SnapShot: bioactive lysophospholipids. *Cell* .2012, 148: 378–378.e.2.
2. **Aoki J., Inoue A., Okudaira S.** Two pathways for lysophosphatidic acid production. *Biochim. Biophys. Acta*.2008, 1781:513–518.
3. **Sano T., Baker D., Virag T., Wada A., Yatomi Y., Kobayashi T., Igarashi Y., Tigyi G.** Multiple mechanisms linked to platelet activation result in lysophosphatidic acid and sphingosine 1-phosphate generation in blood. *J. Biol. Chem.* 2002, 277: 21197–21206.
4. **Block R.C., Duff R., Lawrence P., Kakinami L., Brenna J.T., Shearer G.C., Meednu N., Mousa S., Friedman A., Harris W.S., Larson M., Georas S.** The effects of EPA, DHA, and aspirin ingestion on plasma lysophospholipids and autotaxin. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids*. 2010, 82: 87–95.

5. **Wiesner P., Leid I.K., Boettcher A., Schmitz G., Liebisch G.** Lipid profiling of FPLC-separated lipoprotein fractions by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Lipid Res.* 2009, 50: 574–585.
6. **Sevastou I., Kaffe E., Mouratis M.-A., Aidinis V.** Lysoglycerophospholipids in chronic inflammatory disorders: The PLA2/LPC and ATX/LPA axes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids.* 2013, 1831(1): 42–60.
7. **Van Dijk M.C., Postma F., Hilkmann H., Jalink K., Van Blitterswijk W.J., Moolenaar W.H.** Exogenous phospholipase D generates lysophosphatidic acid and activates Ras, Rho and Ca<sup>2+</sup> signaling pathways. *Curr. Biol.* 1998, 8: 386–392.
8. **Bishop A.L., Hall A.** Rho GTPases and their effector proteins. *Biochemical Journal.* 2000, 348(2): 241–255.
9. **Thumkeo D., Watanabe S., Narumiya S.** Physiological roles of rho and rho effectors in mammals. *European Journal of Cell Biology.* 2013, 92(10–11): 303–315.
10. **Stortelers C., Kerkhoven R., Moolenaar W. H.** Multiple actions of lysophosphatidic acid on fibroblasts revealed by transcriptional profiling. *BMC Genomics.* 2008, 9(387). doi:10.1186/1471-2164-9-387.
11. **Jeong K.J., Park S.Y., Cho K.H., Sohn J.S., Lee J., Kim Y.K., Lee H.Y.** The Rho/ROCK pathway for lysophosphatidic acid-induced proteolytic enzyme expression and ovarian cancer cell invasion. *Oncogene.* 2012, 31(39): 4279–4289.
12. **Schober A., Siess W.** Lysophosphatidic acid in atherosclerotic diseases. *British Journal of Pharmacology.* 2012, 167(3): 465–482.
13. **Merchant T.E., Kasimos J.N., de Graaf P.W., Minsky B.D., Gierke L.W., Glonek T.** Phospholipid profiles of human colon cancer using <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy. *Int. J. Colorectal Dis.* 1991, 6: 121–126.
14. **Stracke M.L., Arestad A., Levine M., Krutzsch H. C., Liotta L.A.** Autotaxin is an N-linked glycoprotein but the sugar moieties are not needed for its stimulation of cellular motility. *Melanoma Research.* 1995, 5(4): 203–209.
15. **Leblanc R., Peyruchaud O.** New insights into the autotaxin/LPA axis in cancer development and metastasis. *Experimental Cell Research.* 2015, 333, 2: 183–189.
16. **Sasagawa T., Okita M., Murakami J., Kato T., Watanabe A.** Abnormal serum lysophospholipids in multiple myeloma patients. *Lipids.* 1999, 34: 17–21.
17. **Benesch M.G., Tang X., Maeda T., Ohhata A., Zhao Y.Y., Kok B.P., Dewald J., Hitt M., Curtis J.M., McMullen T.P., Brindley D.N.** Inhibition of autotaxin delays breast tumor growth and lung metastasis in mice. *FASEB J.* 2014, 28: 2655–2666.
18. **Прохорова В.И., Лаппо С.В., Державец Л.А., Готько О.В., Шишло Л.М., Цырусъ Т.П., Шелкович С.Е., Анищенко А.Е.** Лизофосфатидиловая кислота в оценке степени риска опухолевой прогрессии у пациенток со злокачественными новообразованиями женских половых органов. *Онкологический журнал.* 2013, 7, 4 (28): 57–61
19. **Кидралиев Р.Р.** Клиническое значение лизофосфатидиловой кислоты в диагностике опухолей яичника. *Журнал Российского общества акушеров-гинекологов.* 2009, 3: 26–31.