

50. Goutzamanis G., Gamvros O., Fotiadou P. et al. // 38-th World Congress of the International Society of Surgery: Abstract Book. — Vienna, 1999. — P. 228.
51. Hamming J. F., Vriens M. R., Guslings B. M. et al. // Wld J. Surg. — 1998. — Vol. 22, N 6. — P. 575–580.
52. Hermus A. R. et al. // New Engl. J. Med. — 1998. — Vol. 338, N 20. — P. 1438–1447.
53. Iacconi P. et al. // Surg. Endocr. — 1999. — Vol. 13, N 3. — P. 314–315.
54. Karmakar T., Dey P. // Diagn. Cytopathol. — 1995. — Vol. 12, N 2. — P. 148–151.
55. Katagiri M., Harada T., Kivono T. // Thyroidol. Clin. Exp. — 1994. — Vol. 6, N 1. — P. 21–26.
56. Kneafsey B., Gillen P., Brady M. P. // Irish J. Med. Sci. — 1994. — Vol. 163, N 10. — P. 451–454.
57. Korun N., Asci C., Yilmazlar T. // Int. Surg. — 1997. — Vol. 82, N 4. — P. 417–419.
58. Lean C. L., Delbridge L., Russell P. et al. // J. Clin. Endocrinol. — 1995. — Vol. 80, N 4. — P. 1306–1311.
59. Leenhardt L. // Ann. Endocrinol. — 1993. — Vol. 54, N 4. — P. 237–240.
60. Li J., Cai S., Zhang J. // Chung. Kuo. I. Hsueh. Ko. Pao. — 1994. — Vol. 16, N 2. — P. 93–97.
61. Lochenov V. B., Steiner R. // Proc. SPIE. — 1994. — Vol. 2325. — P. 145.
62. Louis J. D., Leight G. S., Tyler D. S. // Semin. Surg. Oncol. — 1999. — Vol. 16, N 1. — P. 5–11.
63. Lucas A., Llatjos M., Salinas I. et al. // Eur. J. Endocrinol. — 1995. — Vol. 132, N 6. — P. 677–680.
64. McHenry C. R. et al. // Surg. Oncol. Clin. Am. — 1998. — Vol. 7, N 4. — P. 893–910.
65. Murchesi M. et al. // Ann. Ital. Chir. — 1998. — Vol. 69, N 5. — P. 581–586.
66. Murthy S., Mechanick J. I., Chau P. et al. // J. Nucl. Med. — 1993. — Vol. 34, N 3. — P. 465–466.
67. Naoun A. // Ann. Endocrinol. — 1993. — Vol. 54, N 4. — P. 232–234.
68. Price R., Horvath K., Moore F. D. // Thyroid. — 1993. — Vol. 3, N 2. — P. 87–92.
69. Reschini E., Catania A., Ferrari C. et al. // J. Nucl. Biol. Med. — 1993. — Vol. 37, N 1. — P. 12–17.
70. Rodriguez J. V., Parrilla P., Sola J. et al. // Br. J. Surg. — 1994. — Vol. 81. — P. 1151–1154.
71. Rothenberg H. J., Goellner J. R., Garney J. A. // Am. J. Surg. Pathol. — 1999. — Vol. 23, N 1. — P. 118–125.
72. Russo F. et al. // G. Chir. — 1998. — Vol. 19, N 3. — P. 103–108.
73. Sasaki J., Yoneyama Y., Yamamoto M. et al. // 36-th World Congress of Surgery: Abstract Book. — Lisbon, 1995. — P. 14. — N 53.
74. Shimamoto K., Endo T., Ishigaki T. et al. // J. Ultrasound Med. — 1993. — Vol. 12, N 11. — P. 673–678.
75. Shimizu K. et al. // J. Surg. Oncol. — 1998. — Vol. 69, N 3. — P. 178–180.
76. Shimizu K., Akira S., Jasmi A. Y. et al. // J. Am. Coll. Surg. — 1999. — Vol. 198, N 6. — P. 697–703.
77. Sloan D. A., Schwartz R. W., McGrath P. C. et al. // Curr. Opin. Oncol. — 1995. — Vol. 7, N 1. — P. 47–55.
78. Steinert M., Friedrich T., Keitel R. // Zbl. Chir. — 1998. — Bd 123, N 1. — S. 30–33.
79. Stern W. D., Laniado M., Vogl W. et al. // Fortschr. Röntgenstr. — 1994. — Bd 160, N 1. — S. 3–10.
80. Sugino K., Ito K., Mimura T., Iwasaki H. // 38-th World Congress of the International Society of Surgery: Abstract Book. — Vienna, 1999. — P. 229.
81. Takashima S., Fukuda H., Kobayashi T. // J. Clin. Ultrasound. — 1994. — Vol. 22. — P. 535–542.
82. Wemeau J. L., Bauters C., Caron Ph. et al. // Thyroid and Tissues / Eds J. Orgiazzi et al. — Stuttgart; New York, 1994. — P. 177–183.
83. Werga P., Wallin G., Skoog L. et al. // 38-th World Congress of the International Society of Surgery: Abstract Book. — Vienna, 1999. — P. 228.
84. Wiersinga W. M. // Eur. J. Endocrinol. — 1995. — Vol. 132, N 6. — P. 661–662.
85. Wilson J. D., Foster D. W., Kronenberg H. M., Larsen P. R. // Williams Textbook of Endocrinology. — 9-th Ed. — Philadelphia, 1998. — P. 482–487.
86. Yasuda K., Ozaki O., Sugino K. et al. // Wld J. Surg. — 1992. — Vol. 16. — P. 958–961.
87. Young G. H. // Surg. Laparosc. Endosc. — 1998. — Vol. 8, N 3. — P. 227–232.
88. Zaichick V., Zaichick S. // Sci. Total Environm. — 1997. — Vol. 206, N 1. — P. 39–56.
89. Zou M. et al. // Eur. J. Cancer. — 1999. — Vol. 35, N 3. — P. 467–472.

Поступила 25.11.99

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК 612.014.1(048.8)

А. В. Кривцов, М. Ю. Меньшиков, В. А. Ткачук

УЧАСТИЕ ТИРОЗИНОВЫХ ПРОТЕИНКИНАЗ, ПРОТЕИНФОСФАТАЗ И ДОКИНГ БЕЛКОВ В ПРОВЕДЕНИИ СИГНАЛА ОТ РЕЦЕПТОРА ИНСУЛИНА¹

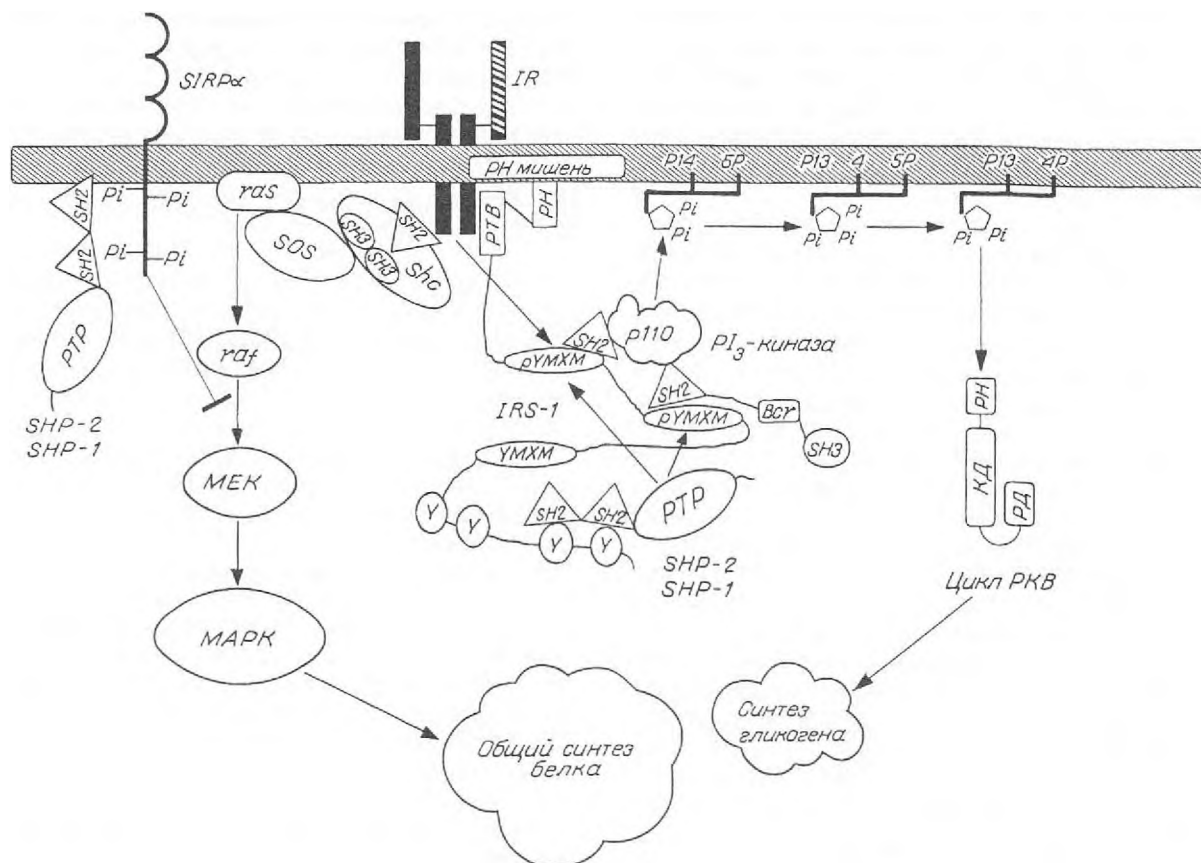
Лаборатория молекулярной эндокринологии (руководитель — член-корр. РАН В. А. Ткачук) Института экспериментальной кардиологии (дир. — член-корр. РАН В. Н. Смирнов), Российский кардиологический научно-производственный комплекс (ген. директор — акад. Е. И. Чазов) Минздрава РФ, Москва

Процессы роста, дифференцировки, выживания, метаболизма и смерти клеток регулируются фосфорилированием и дефосфорилированием сигнальных белков по специфическим тирозиновым остаткам [86]. Многие рецепторы факторов роста обладают тирозинпротеинкиназной активностью. При взаимодействии ростовых факторов с их рецепторами происходит аутофосфорилирование рецепторных тирозиновых протеинкиназ, выражающееся в их каталитической активации, что приводит к фосфорилированию многих внутриклеточных субстратов этих рецепторов. Считается, что терминация внутриклеточной сигнализации про-

исходит при участии тирозиновых протеинфосфатаз (ТПФ). В то же время последние данные свидетельствуют о том, что ТПФ могут не только подавлять сигнализацию, но и усиливать ее [76].

Инсулин оказывает множественное воздействие на клетку. Он регулирует метаболизм глюкозы в организме [44], а также, являясь фактором роста, стимулирует пролиферацию и дифференцировку клеток [71]. Связывание инсулина со своим рецептором (IR) на поверхности клеток активирует протеинкиназный домен рецептора, что приводит к аутофосфорилированию β -субъединицы рецептора с последующим связыванием и фосфорилированием внутриклеточных мишеней инсулинового рецептора — субстрата-1 инсулинового рецептора (IRS-1). Этот докинг-белок в фосфорилированном по тирозиновым остаткам состоянии связывает множество сигнальных белков, содержащих SH2-домены, образуя мультисубъединичные сигнальные комплек-

¹Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант 99-04-48641) и Соросовской образовательной программы (грант аспиранту А. В. Кривцову а99-37).



Пути проведения регуляторного сигнала от рецептора инсулина. Приведена схема регуляции ТПФ (SH-1 и SH-2) белками SIRPα и IRS-1, передачи сигнала с IRS-1 через фосфатидилинозитол-3-киназу (PI₃-киназа) на протеинкиназу B (PKB), а также сигнала от инсулинового рецептора на MAP-киназный путь, опосредуемый белками SOS и Shc.

сы, опосредующие передачу сигнала внутри клетки. Регуляция инсулиновой сигнализации требует участия ТПФ. К настоящему времени клонированы 2 ТПФ, содержащие SH2-домены (SHP-1 и SHP-2), позволяющие этим фосфатазам связываться с фосфорилированным инсулиновым рецептором и его субстратами — докинг-белками. Выяснение роли этих фосфатаз в инсулиновой сигнализации может помочь понять механизмы инсулиновой сигнализации, которая до сих пор остается одним из белых пятен эндокринологии и физиологии клетки.

Роль фосфорилирования тирозиновых остатков в клеточной сигнализации

Проведение внешнего сигнала в клетку является одним из основных условий запуска и регуляции клеточного роста, дифференцировки и метаболизма, развития нервной системы, взаимодействия клеток иммунной системы и трансформации клеток [31]. Тирозиновое фосфорилирование играет ключевую роль во многих из этих процессов, непосредственно регулируя активность рецепторов или ферментов на ранних этапах сигнализации и при сборке мультисубъединичных сигнальных комплексов вокруг активированных рецепторов или их клеточных субстратов [64]. Запуск сигнальных каскадов, контролируемый рецепторами факторов роста, приводит к фосфорилированию тирозиновых остатков клеточных белков, которое катализи-

руется тирозиновыми протеинкиназами, активированными в результате димеризации специфичных рецепторов после связывания ими внеклеточного лиганда [74]. Как правило, участки тирозинового аутофосфорилирования в активированных рецепторах связывают SH2-белки, которые имеют гомологию с Src-киназой. В других случаях аутофосфорилирование по тирозиновым остаткам повышает каталитическую активность рецепторных тирозиновых протеинкиназ, которые опосредуют тирозиновое фосфорилирование цитозольных субстратов, так называемых докинг-белков. Последние в свою очередь связывают SH2-белки для образования мультисубъединичных сигнальных комплексов [92]. Сигнализация развивается также с участием посредников, несущих другие домены, которые опосредуют белок-белковое или белок-липидное взаимодействие (PTB-, SH3- и PH-домены) (см. рисунок).

Идентификация субстратов, фосфорилируемых инсулиновым рецептором

Инсулин стимулирует тирозиновое фосфорилирование белка с относительной мол. массой около 180 кД (p180) во всех тканях и клетках, чувствительных к инсулину. Считается, что инсулиновая сигнализация опосредуется тирозиновым фосфорилированием внутриклеточных докинг-белков [91]. С помощью иммобилизованных антител к фосфотирозину было выделено достаточное коли-

чество белка pp180 для определения частичной аминокислотной последовательности, подбора вырожденных праймеров и клонирования кДНК белка, названного IRS-1 [72, 80]. IRS-1 кодируется одним геном на хромосоме 2q36-37 человека (или хромосоме 1 мыши) и имеет расчетную относительную мол. массу 132 кД [3, 78].

Существование белка, похожего на IRS-1, было выявлено в клетках гепатомы, в которых специфические антитела к IRS-1 относительно слабо связывались с p180. Этот неактивный белок был назван p180^{nmw}, так как он имел несколько меньшую электрофоретическую подвижность, чем p180 [53]. Последующие исследования выявили белок с подобной относительной молекулярной массой в миелоидных клетках (субстрат рецептора IL-4, названный 4PS) и в гепатоцитах, а также у мышей с разрушенным геном IRS-1 [79, 84]. Очистка и молекулярное клонирование гена, кодирующего 4PS из клеток FDC-P2, выявили белок, структурно похожий на IRS-1 и иммунологически идентичный p180^{nmw}. Новый белок был назван IRS-2 [79]. Ген, кодирующий IRS-2, расположен на коротком плече мышиной хромосомы 8 вблизи гена, кодирующего рецептор инсулина [81]. Сравнение аминокислотных последовательностей IRS-1 и IRS-2 выявило несколько основных особенностей, включая консервативный N-концевой домен, гомологичный плекстрину (PH-домен), а также домен, связывающий фосфотирозин (PTB-домен), который специфично взаимодействует с NPXY-последовательностью. Тем не менее общая гомология этих белков составляет только 35%, так как аминокислотные последовательности C-концевых участков у них разные. Участки, фосфорилирующиеся по тирозиновым остаткам, либо гомологичны у IRS-2 и IRS-1, либо идентичны.

IRS-1 может фосфорилироваться по более чем 20 тирозиновым остаткам и связывается с несколькими SH2-белками, включая p85, Grb-2, SHP-2, pck, ctk, fyn и SHP-1 [9, 40, 47, 56, 75, 80]. Результаты сравнительного анализа связывания IRS-1 и IRS-2 с различными SH2-белками свидетельствуют о том, что существуют SH2-белки, способные связываться как с IRS-1, так и с IRS-2, но некоторые SH2-белки могут связываться либо только с IRS-1, либо только с IRS-2 [81]. Интересно, что immortalized фибробласты, у которых отсутствует IRS-1 и гиперэкспрессирован IRS-2, имеют нарушения в инсулиновой сигнализации. Таким образом, эти 2 докинг-белка функционально не идентичны и не могут выполнять функции друг друга [11].

Есть 3 члена этого семейства, гомологичных IRS-1. Это IRS-2, Gab-1 и p60^{src}. Они образуют подсемейство IRS-белков [30, 81, 93] и имеют общую функциональную структуру: 1) N-концевой PH- и (или) PTB-домены, которые опосредуют межбелковое или белок-липидное взаимодействие; 2) тирозиновые остатки, которые при фосфорилировании образуют места связывания для SH2-доменов других белков; 3) последовательности, богатые пролиновыми остатками, с которыми связываются белки, содержащие SH3- и WW-домены; 4) последовательности, богатые сериновыми и треониновыми остатками, которые могут регулировать общую функцию белков через взаимодействие с другими внутриклеточными белками. Другие под-

семейства докинг-белков включают в себя белки Shc [65], p130^{cas} и sin, которые так же, как и IRS-белки, состоят из доменов, опосредующих белок-белковое взаимодействие, а также из многочисленных участков тирозинового фосфорилирования.

IRS-белки координируют разветвленную и гибкую сигнальную систему

Что дает участие докинг-белков внутриклеточной сигнализации? Во-первых, IRS-белки создают предпосылку к усилению внутриклеточного сигнала за счет изменения стехиометрии рецепторный комплекс/докинг-белок. Количество SH2-белков, имеющих возможность связаться с фосфорилированным тирозиновым остатком, в присутствии докинг-белков будет существенно большим. Например, активированный рецептор PDGF образует сигнальный комплекс из SH2-белков, взаимодействующих с фосфотирозиновыми остатками рецептора, и интенсивность этого сигнала ограничена количеством молекул рецептора, связавших лиганд. Напротив, стимуляция инсулинового рецептора, вызывающая фосфорилирование IRS-1 по тирозиновым остаткам, приводит к активации большого числа докинг-белков, на каждом из которых могут связываться SH2-белки и образовывать многочисленные мультиферментные комплексы. Во-вторых, IRS-белки диссоциируют от трансмембранного рецепторного комплекса и тем самым препятствуют внутриклеточному распаду комплекса рецептора со связанными с ним белками сигнального комплекса. Обычно после связывания лиганда рецепторы интернализуются. Как правило, активированный рецептор мигрирует в клатриновые везикулы, которые образуют эндосомы и затем либо возвращают рецептор на поверхность плазматической мембраны, либо направляют его в лизосомы для последующей деградации [7]. Сигнальные молекулы, ассоциированные с рецептором, также могут следовать в лизосомы. В случае IRS-белков их взаимодействие с рецепторным комплексом кратковременное, поэтому сигнальный комплекс, образованный на докинг-белке (в отличие от сигнального комплекса, образованного на рецепторе), не подвергается протеолизу, а мигрирует в специальные внутриклеточные органеллы или другие компартменты клетки. "Челночное" поведение докинг-белков скорее всего обуславливает тканеспецифичность эффектов инсулина: транслокацию GLUT-4 на клеточную мембрану в адипоцитах, транслокацию активированной PI₃-киназы в малые пузырьковые везикулы в фибробластах [39] и образование нейритов в дифференцирующихся нейронах.

Способность одной молекулы рецептора активировать несколько молекул IRS-1 расширяет спектр регулируемых сигнальных путей. Во время стимуляции клеток инсулином белки IRS-1, IRS-2, Gab-1 и p60^{src} являются потенциальными субстратами для активированного рецептора. Каждый из них обладает общими и уникальными последовательностями, окружающих фосфотирозины. Более того, существование уникальных сайтов фосфорилирования на различных докинг-белках расширяет возможности для более тонкого регулирования многочисленных клеточных ответов. Так, IRS-2

опосредует сигнализацию от рецептора IL-4, ответственную за клеточный рост, тогда как специфичная экспрессия генов в основном регулируется непосредственным взаимодействием между белком STAT6 и рецептором IL-4. Поскольку на клетку в организме действует сразу множество лигандов, то одновременное использование докинг-белков несколькими рецепторными комплексами интегрирует различные сигналы в координированный клеточный ответ. Помимо рецепторов инсулина и инсулиноподобного ростового фактора IGF-1, IRS-белки могут фосфорилироваться по тирозиновым остаткам рецепторами гормона роста и пролактина [4, 10, 66, 85], интерлейкинов IL-2, IL-4, IL-9, IL-13 и IL-15 [9, 13, 33], интерферонов INF- α/β и INF- γ [66, 85], членов IL-6 семейства [4] и рецептором ангиотензина [88]. Подобным образом IRS-подобный белок Gab-1 служит субстратом для рецепторов инсулина, фактора роста гепатоцитов (c-Met) и EGF. P61^{doc} служит мишенью для протоонкогенов v-Abl, v-Src, v-Fps, v-Fms и рецепторов инсулина, IGF-1 EGF, PDGF, CSF-1 и VEGF [94]. Следовательно, докинг-белки создают общий класс посредников для интеграции различных сигналов от активированных тирозиновых протеинкиназ, вовлеченных в контроль метаболизма и клеточного роста.

Сигнальные белки, взаимодействующие с IRS-1

IRS-белки обеспечивают проведение сигнала через прямое связывание с SH2-доменами различных сигнальных молекул. Найдено несколько сигнальных молекул и адаптеров, связывающихся с IRS-1: PI₃-киназа, SHP-2, Fyn, Grb2, Nck и Crk [9, 40, 47, 56, 75, 80]. IRS-1 также взаимодействует с большим Т-антигеном SV40, белками 14-3-3 и $\alpha\beta$ 3 независимо от тирозинового фосфорилирования [14, 23, 89].

Белок IRS-1 сопрягает рецепторные протеинкиназы с сигнальными молекулами, находящимися "ниже" на пути проведения сигнала. IRS-1 принадлежит к семейству докинг-белков, которые представляют собой белки-посредники между рецепторными комплексами и белками, содержащими SH2-домены. PI₃-киназа — наиболее изученный фермент из тех, которые активируются IRS-1. Он играет важную роль в регуляции широкого спектра биологических ответов клетки на различные гормоны, факторы роста и цитокины, запуская митогенез [87, 95], участвуя в дифференцировке [37], хемотаксисе клеток [43, 59], изменениях цитоскелета (membrane ruffling) [90] и инсулинзависимой активации метаболизма глюкозы [60]. PI₃-киназа представляет собой димер, состоящий из каталитической и регуляторной субъединиц. Каталитическая субъединица с мол. массой 110 кД (p110 α и p110 β) при определенных условиях связывается с регуляторной субъединицей, которая имеет мол. массу 85 кД (p85 α и p85 β), и тем самым активируется. Во время поиска других белков, связывающихся с IRS-1 и содержащих SH2-домены, была клонирована регуляторная субъединица p55^{PIK}, экспрессирующаяся в мозгу и семенниках. С-конец p55^{PIK} сходен с тем же участком p85, включая богатую пролином последовательность, а также 2 SH2-домена и консенсусную последовательность для свя-

зывания p110 [19], а SH3-домен и последовательность, гомологичная Src, присутствующие в p85, в p55^{PIK} заменены на другую последовательность из 30 аминокислотных остатков [69]. Как и p85, p55^{PIK} связывается с фосфорилированным по тирозиновым остаткам IRS-1, и это взаимодействие активирует PI₃-киназу [69]. Две другие регуляторные субъединицы (p85 α и p85 β) кодируются тем же геном, что и p85, и являются продуктами его альтернативного сплайсинга [2, 28, 32].

PI₃-киназа играет важнейшую роль в инсулинзависимых метаболических процессах, таких как транспорт глюкозы, синтез гликогена, а также синтез белка. Связывание SH2-доменов регуляторной субъединицы PI₃-киназы с фосфорилированными последовательностями YMXM в IRS-1 активирует каталитическую субъединицу киназы, и эта активация максимальна при связывании обоих SH2-доменов [6]. Одновременное связывание может происходить на одной и той же молекуле белка [70]. Поскольку IRS-1 содержит 9 YMXM-последовательностей, он представляет собой идеальный докинг-белок для активации PI₃-киназы. Этот механизм активации инсулином PI₃-киназы был продемонстрирован в клетках 32D, в которых отсутствуют эндогенные IRS-1 и IRS-2. С использованием ингибиторного анализа выявлены следующие ферменты, которые могут передавать сигнал от PI₃-киназы: p70^{S6K}, PKB, PKC ξ и другие киназы [20, 26, 57]. Регуляция PKB (Protein Kinase B) осуществляется путем связывания с ее PH-доменом и фосфорилирования специфических сериновых и треониновых остатков [1]. PKB и PKC ξ вовлечены в различные биологические эффекты, в том числе в транслокацию GLUT4 в плазматическую мембрану, синтез белков, ответственных за рост клетки, синтез гликогена [1, 8, 15, 29].

Тирозиновые протеинфосфатазы SHP-1 и SHP-2

Нерецепторные ТПФ, содержащие SH2-домены, были идентифицированы в различных видах животных. В высших организмах обнаружены 2 ТПФ, содержащие тандем из двух функционально активных SH2 доменов — SHP-1 и SHP-2. У обеих фосфатаз специфичность по отношению к мишеням, содержащим фосфотирозин, различается у С-приближенного и N-концевого SH2-доменов. SHP-1 экспрессируется преимущественно в клетках гематопоетической системы и в мозге [67], в несколько меньших количествах этот белок был обнаружен в клетках других типов [77]. Известна природная мутация в гене, кодирующем SHP-1 мыши, приводящая к появлению фенотипа moth-eaten (me/me) мышей. Эти мыши послужили моделью для изучения многих физиологических эффектов SHP-1. Фосфатаза млекопитающих SHP-2 экспрессируется во всех типах тканей [25]. Наличие у данных ТПФ двух сцепленных SH2-доменов позволяет предположить, что эти ТПФ могут взаимодействовать с известными сигнальными каскадами, запускаемыми тирозиновыми протеинкиназами. Последние исследования, сочетающие в себе биохимические и генетические подходы, подтверждают высказанное выше предположение. Были обнаружены пути сигнализации, находящиеся под контролем этих двух ТПФ, а также потенциальные

мишени действия как каталитического домена, так и SH2-доменов. Несмотря на то что эти 2 фосфатазы имеют идентичную доменную организацию и являются близкими (более 55%) гомологами, они могут иметь разные биологические функции. Ранее SHP-1 рассматривалась как белок, подавляющий сигнализацию от рецепторных ТПК, а SHP-2 и Csw — как фосфатазы, усиливающие этот сигнал. Более поздние исследования свидетельствуют в пользу того, что характер действия этих фосфатаз зависит от конкретного сигнального пути.

SHP-1 в гематопозитических клетках

Мыши фенотипа *motheaten*, несущие мутацию в локусе SHP-1, имеют широкий спектр метаболических и митогенных дефектов, которым подвержены практически все линии клеток крови. Это вызвано тем, что SHP-1 подавляет внутриклеточную сигнализацию от рецепторов цитокинов и таких мультисубъединичных рецепторов, как рецепторы антигенов, Fc-рецепторы и рецепторные тирозиновые протеинкиназы. В клетках, в которых рецепторы эритропоэтина имеют мутацию, предотвращающую связывание с SHP-1, происходит пролонгированное фосфорилирование Jak2-киназы, ассоциированной с c-kit, с которым в свою очередь связан рецептор эритропоэтина, вследствие чего эти клетки обладают повышенной митогенной активностью [38]. Подобным же образом у мышей с фенотипом *me/me* макрофаги, стимулированные интерфероном- α , обладают заметно повышенным уровнем тирозинового фосфорилирования Jak1-киназы. На основании этого можно предположить, что одной из основных функций SHP-1 является взаимодействие с семейством Janus-киназ (Jak). Однако не все тирозиновые протеинкиназы семейства Janus могут инактивироваться путем дефосфорилирования, которое осуществляется фосфатазой SHP-1. Так, интерферонзависимая активация Tyk2 протекает одинаково хорошо в нормальных макрофагах и макрофагах из *me/me*-мышей [18]. Было обнаружено, что взаимодействие SHP-1 с рецептором IL-2 β положительно коррелирует с понижением содержания фосфотирозина в киназах Jak1 и Jak3, ассоциированных с рецептором IL-2 β [52]. В этих исследованиях было продемонстрировано, что SHP-1 регулирует активность некоторых из ассоциированных с рецепторами изоформ Jak, но прямого дефосфорилирования этой протеинкиназы фосфатазой SHP-1 не обнаружено. Возможно, что во взаимодействии между SHP-1 и протеинкиназами семейства Janus участвуют белки-посредники. Открытым остается вопрос о том, какая фосфатаза берет на себя функцию SHP-1 у мышей с фенотипом *me/me*. Активация лимфоцитов антигеном через В-клеточный рецептор подавляется при кросс-сшивке молекул Fc-рецептора (Fc γ RIIB). При этом изменяется также образование антител под действием иммунных комплексов. Мутация специфического тирозинового остатка в Fc γ RIIB переводит В-клетки в необратимо активированное состояние. Синтетический фосфопептид, отражающий последовательность I/VXYXXL из рецептора Fc γ RIIB, связывается с SHP-1, SHP-2 и инозитолмонофосфатазой (SHIP) [61].

Обнаружено, что в В-лимфоцитах мышей с фенотипом *me/me* Fc γ RIIB не может подавлять акти-

вацию клеток антигеном, на основании чего предположено, что SHP-1 является сигнальной молекулой, используемой Fc γ RIIB для подавления сигнализации от В-клеточного рецептора (BCR). При нарушении связывания SHP-1 с Fc γ RIIB общий уровень тирозинового фосфорилирования не изменяется, что свидетельствует о том, что фосфатаза SHP-1, активированная связыванием с Fc γ RIIB, имеет ограниченный доступ к своим субстратам или же количество активированных молекул фосфатазы невелико [17]. У мышей фенотип *me/me* Fc γ RIIB сохранял способность подавлять активацию тучных клеток, на основании чего было предположено, что в этом случае SHIP или SHP-2 выполняют функцию SHP-1.

Более поздние данные тех же исследователей, полученные на линиях В-клеток с разрушенными генами SHP-1 или SHIP, показали, что проведение регуляторного сигнала от рецептора Fc γ RIIB зависит в большей степени от SHIP, чем от SHP-1, тогда как сигнализация от рецепторов семейства KIR (от Killer cells Inhibitory Receptors) в большей степени использует SHP-1, чем SHIP [62]. При этом остается вопрос о причине нарушения сигнализации у *me/me*-мышей, а также о роли SHIP в клетках этих мышей. Возможно, что эти 2 фосфатазы действуют скоординированно или же влияют на активность друг друга.

Аминокислотные последовательности, подобные найденным в рецепторе Fc γ RIIB, были обнаружены также в других рецепторах и впоследствии получили название ITIM (Immune receptor Tyrosine based Inhibitory Motives) [55]. ITIM-последовательность была обнаружена в KIR и белке CD22 (В-клеточный корецептор). Белки KIR связываются с МНС-молекулами первого класса и защищают клетки хозяина от лизиса натуральными киллерами. SHP-1 связывается с фосфотирозином в составе ITIM через SH2-домены, и это вызывает активацию ее тирозинпротеинфосфатазного домена. Более того, гиперэкспрессия каталитически неактивного мутанта SHP-1, у которого цистеин в активном центре заменен на серин (SHP-1-CS), блокирует опосредованное KIR ингибирование активации NK-клеток [12]. Учитывая то, что SHP-1, SHP-2 и SHIP могут связываться через свои SH2-домены с фосфотирозинами в составе разных белков, трудно представить, что только SHP-1 регулирует сигнализацию, вызываемую KIR. SHP-1 может непосредственно взаимодействовать с CD22, и эффективность этого взаимодействия может определять порог чувствительности В-клеток к антигену [21]. У трансгенных мышей по BCR, полученных на основе *me/me*-мышей, не наблюдалось повышенной чувствительности к антигенам [16], что подтверждает данную гипотезу. Тем не менее нет доказательств того, что ITIM в молекуле CD22 действительно необходим для того, чтобы CD22 мог ингибировать сигнал, проводимый от BCR.

Другой молекулой, подавляющей активацию В-лимфоцитов, является парный иммуноглобулин-подобный рецептор, в цитоплазматической части которого есть 4 тирозиновых остатка, фосфорилирующихся при активации В-клеток. Тирозиновый остаток Y₇₇₁ удовлетворяет консенсусной последовательности для ITIM, и его замена на фенилаланин лишает рецептор способности подавлять акти-

вацию В-клеток. Было показано, что обе фосфатазы SHP-1 и SHP-2 связываются с этим фосфорилированным тирозиновым остатком [50] и, по-видимому, активация одной или обеих фосфатаз необходима для подавления активации В-лимфоцитов. SHP-1 может связываться с фосфорилированным рецептором c-kit и фосфорилируется под действием фактора steel, который является лигандом c-kit. Показано, что в гематопозитических клетках на ранних стадиях дифференцировки дефосфорилирование c-kit опосредуется SHP-1, а высокая активность регуляторного пути, в котором участвует c-kit, может являться одной из причин развития фенотипа motheaten [48, 49, 63].

IRS-1-активирует фосфатазу SHP-2

ТПФ SHP-2, обладающая двумя SH2-доменами, экспрессируется в большинстве клеток млекопитающих [27]. Некоторые из рецепторов факторов роста, включая EGFR, PDGFR, c-Kit, специфично связываются с SH2-доменами SHP-2 [24, 45, 46, 83]. При стимуляции клеток инсулином SHP-2 может связываться с тремя фосфорилированными тирозиновыми остатками в IRS-1 [22, 40], она также связывается с фосфорилированным Y_{1146} в регуляторной петле инсулинового рецептора [36]. SHP-2 активируется при связывании с фосфорилированными фосфопептидами, повторяющими последовательности YXXL из IRS-1, причем полная активация достигается при связывании фосфопептидов с обоими SH2-доменами [67]. Связывание SHP-2 с различными докинг-белками может обеспечивать локализацию фосфатазы в специфических клеточных компартментах, тем самым регулируя определенные сигнальные пути.

Опубликованы данные о том, что каталитическая активность SHP-2 требуется для проведения метаболического сигнала от рецептора инсулина, так как стабильная экспрессия каталитически неактивной формы фосфатазы подавляет инсулинзависимую активацию MAP-киназы и транскрипцию c-fos в интактных клетках [58, 73, 93]. Этот эффект частично устраняется при коэкспрессии протоонкогена v-gas или адапторного белка Grb2, указывая на то, что SHP-2 действует "выше" от киназы Ras, и возможно, выполняя функцию адаптерного белка между инсулиновым рецептором и Grb2 [58]. Другими авторами было показано, что SHP-2 может дефосфорилировать IRS-1 и тем самым модулировать некоторые из сигналов, проводимых этим белком [41]. Эта гипотеза подтверждалась данными о том, что у мышей с одной разрушенной аллелью гена SHP-2 и соответственно экспрессирующих половину нормального количества фосфатазы, фосфорилирование IRS-1 было интенсивнее, и активность связанной с IRS-1 PI_3 -киназы была выше в ответ на стимуляцию клеток инсулином [5]. Когда мутант IRS-1, не несущий сайтов связывания с SHP-2, был экспрессирован в клетках 32D, наблюдалось повышение уровня его тирозинового фосфорилирования и увеличение связанной с ним активности PI_3 -киназы, а также двукратное возрастание включения [3H]-тимидина в ДНК в ответ на стимуляцию инсулином [51].

Ингибирование сигнализации через IRS-1

Для контроля уровня тирозинового фосфорилирования IRS-1 было предложено 2 механизма. Один из них заключается в ингибировании тирозинового фосфорилирования IRS-1 за счет его фосфорилирования по сериновым и треониновым остаткам [34, 35, 82]. Так, в адипоцитах 3T3 L1 обработка ооадевой кислотой увеличивает сериновое фосфорилирование IRS-1, уменьшает его тирозиновое фосфорилирование и инсулинзависимую активацию PI_3 -киназы [82]. Точечная мутация в IRS-1, заменяющая серин на аланин в консенсусной последовательности для фосфорилирования IRS-1 MAP-киназой, увеличивает и тирозиновое фосфорилирование IRS-1, и ассоциированную с ним активность PI_3 -киназы [54]. Эти данные свидетельствуют о том, что фосфорилирование сериновых остатков в IRS-1 может ингибировать инсулинстимулированное фосфорилирование последовательностей YMXM в IRS-1, тем самым подавляя взаимодействие p85 с IRS-1.

Альтернативный и более специфический механизм регуляции IRS-1 заключен в прямом дефосфорилировании фосфотирозиновых остатков IRS-1. О существовании фосфатаз, дефосфорилирующих IRS-белки, свидетельствует тот факт, что в покоящихся клетках эти белки не фосфорилированы по тирозиновым остаткам. Как было упомянуто выше, фосфатазы, содержащие SH2-домены, являются подходящими кандидатами для выполнения этой функции, так как они могут специфично связываться только с фосфорилированным по тирозиновым остаткам IRS-1. Сообщалось, что SHP-2 связывается с фосфорилированным IRS-1 [40], дефосфорилирует его *in vitro* [41], но в экспериментах в клеточной системе данные по прямому дефосфорилированию IRS-1 этой фосфатазой не подтвердились [36, 42]. Другой, наиболее вероятной ТПФ, выполняющей эту функцию, является SHP-1.

Инсулиновая сигнализация осуществляется путем фосфорилирования и дефосфорилирования специфических тирозиновых остатков в молекулах белков. Выявлено 2 класса ферментов — тирозиновые протеинкиназы и ТПФ, катализирующие эти превращения. Классифицировано семейство белков-посредников, или докинг-белков, на которых собираются мультиферментные, сигналпроводящие комплексы, а также определена роль доменов белков, за счет которых образуются эти сигналпроводящие комплексы.

Вместе с тем остается не до конца выясненным механизм "разборки" этих мультисубъединичных комплексов. Если основополагающим принципом для сборки этих комплексов служит тирозиновое фосфорилирование, то для разборки этих белковых комплексов основную роль должно играть тирозиновое дефосфорилирование. ТПФ, содержащие SH2-домены, являются прекрасными кандидатами на роль фосфатаз, дефосфорилирующих докинг-белки. Эти фосфатазы могут высокоспецифично связываться с последовательностями, содержащими фосфорилированные тирозиновые остатки, тем самым как бы входя в состав этих сигналпроводящих комплексов. Поиск непосредственных субстратов этих фосфатаз, безусловно, важен для более полного понимания картины внутриклеточной сигнализации.

1. Alessi D. R., Andjelkovic M., Caudwell B. et al. // *EMBO J.* — 1996. — Vol. 15, N 23. — P. 6541—6551.
2. Antonetti D. A., Algenstaedt P., Kahn C. R. // *Mol. Cell. Biol.* — 1996. — Vol. 16, N 5. — P. 2195—2203.
3. Araki E., Lipes M. A., Patfi M. E. et al. // *Nature.* — 1994. — Vol. 372, N 6502. — P. 186—190.
4. Argetsinger L. S., Norstedt G., Billestrup N. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271, N 46. — P. 29415—29421.
5. Arrandale J. M., Gore-Willse A., Rocks S. et al. // *Ibid.* — 1996. — N 35. — P. 21353—21358.
6. Backer J. M., Schroeder G. G., Kahn C. R. et al. // *Ibid.* — 1992. — Vol. 267, N 2. — P. 1367—1374.
7. Backer J. M., Shoelson S. E., Weiss M. A. et al. // *J. Cell. Biol.* — 1992. — Vol. 118, N 4. — P. 831—839.
8. Bandyopadhyay G., Standaert M. L., Zhao L. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272, N 4. — P. 2551—2558.
9. Beitner-Johnson D., Blakesley V. A., Shen-Orr Z. et al. // *Ibid.* — 1996. — Vol. 271, N 16. — P. 9287—9290.
10. Berlanga J. J., Gualillo O., Buteau H. et al. // *Ibid.* — 1997. — Vol. 272, N 4. — P. 2050—2052.
11. Bruning J. C., Winnay J., Cheatham B., Kahn C. R. // *Mol. Cell. Biol.* — 1997. — Vol. 17, N 3. — P. 1513—1521.
12. Burshtyn D. N., Scharenberg A. M., Wagtmann N. et al. // *Immunology.* — 1996. — Vol. 4, N 1. — P. 77—85.
13. Chen X. H., Patel B. K., Wang L. M. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272, N 10. — P. 6556—6560.
14. Craparo A., Freund R., Gustafson T. A. // *Ibid.* — N 17. — P. 11663—11669.
15. Cross D. A., Alessi D. R., Cohen P. et al. // *Nature.* — 1995. — Vol. 378, N 6559. — P. 785—789.
16. Cyster J. G., Goodnow C. C. // *Immunity.* — 1995. — Vol. 2, N 1. — P. 13—24.
17. D'Ambrosio D., Hippen K. L., Minskoff A. et al. // *Science.* — 1995. — Vol. 268, N 5208. — P. 293—297.
18. David M., Chen H. E., Goetz S. et al. // *Mol. Cell. Biol.* — 1995. — Vol. 15, N 10. — P. 7050—7058.
19. Dhand R., Hiles I., Panayorou G. et al. // *EMBO J.* — 1994. — Vol. 13, N 3. — P. 522—533.
20. Diaz-Meco M. T., Lozano J., Municio M. M. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1994. — Vol. 269, N 5. — P. 31706—31710.
21. Doody G. M., Justement L. B., Delibrias C. C. et al. // *Science.* — 1995. — Vol. 269, N 5221. — P. 242—244.
22. Eck M. J., Dhe-Paganon S., Trub T. et al. // *Cell.* — 1996. — Vol. 85, N 5. — P. 695—705.
23. Fel Z. L., D'Ambrosio C., Li S. et al. // *Mol. Cell. Biol.* — 1995. — Vol. 15, N 8. — P. 4232—4239.
24. Feng G. S., Hui C. C., Pawson T. // *Science.* — 1993. — Vol. 259, N 5101. — P. 1607—1611.
25. Feng G. S., Shen R., Heng H. H. et al. // *Oncogene.* — 1994. — Vol. 9, N 6. — P. 1545—1550.
26. Franke T. F., Yang S. I., Chan T. O. et al. // *Cell.* — 1995. — Vol. 81, N 5. — P. 727—736.
27. Freeman R. M. Jr., Plutzky J., Neel B. G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1992. — Vol. 89, N 23. — P. 11239—11243.
28. Fruman D. A., Cantley L. C., Carpenter C. L. // *Genomics.* — 1996. — Vol. 37, N 1. — P. 113—121.
29. Hemmings B. A. // *Science.* — 1997. — Vol. 275, N 5300. — P. 628—630.
30. Holgado-Madruga M., Emler D. R., Moscatello D. K. et al. // *Nature.* — 1996. — Vol. 379, N 6565. — P. 560—564.
31. Hunter T. // *Cell.* — 1997. — Vol. 88, N 3. — P. 333—346.
32. Inukai K., Anai M., Van Breda E. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271, N 10. — P. 5317—5320.
33. Johnston J. A., Wang L. M., Hanson E. P. et al. // *Ibid.* — 1995. — Vol. 270, N 48. — P. 28527—28530.
34. Jullien D., Tanti J. F., Heydrick S. J. et al. // *Ibid.* — 1993. — Vol. 268, N 20. — P. 15246—15251.
35. Kanety H., Feinstein R., Papa M. Z. et al. // *Ibid.* — 1995. — Vol. 270, N 40. — P. 23780—23784.
36. Kharitonov A., Schnekenburger J., Chen Z. et al. // *Ibid.* — N 49. — P. 29189—29193.
37. Kimura K., Hattori S., Kabuyama Y. et al. // *Ibid.* — 1994. — Vol. 269, N 29. — P. 18961—18967.
38. Klingmüller U., Lorenz U., Cantley L. C. et al. // *Cell.* — 1995. — Vol. 80, N 5. — P. 729—738.
39. Kublaoui B., Lee J., Pilch P. F. // *J. Biol. Chem.* — 1995. — Vol. 270, N 1. — P. 59—65.
40. Kuhne M. R., Pawson T., Lienhard G. E., Feng G. S. // *Ibid.* — 1993. — Vol. 268, N 16. — P. 11479—11481.
41. Kuhne M. R., Zhao Z., Rowles J. et al. // *Ibid.* — Vol. 269, N 22. — P. 15833—15837.
42. Kuhne M. R., Zhao Z., Lienhard G. E. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 1995. — Vol. 211, N 1. — P. 190—197.
43. Kundra V., Escobedo J. A., Kazlauskas A. et al. // *Nature.* — 1994. — Vol. 367, N 6462. — P. 474—476.
44. Lawrence J. C., Jr., Roach P. J. // *Diabetes.* — 1997. — Vol. 46. — P. 541—547.
45. Lechleider R. J., Freeman R. M., Jr., Neel B. G. // *J. Biol. Chem.* — 1993. — Vol. 268, N 18. — P. 13434—13438.
46. Lechleider R. J., Sugimoto S., Bennett A. M. et al. // *Ibid.* — N 29. — P. 21478—21481.
47. Lee C. H., Li W., Nishimura R. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1993. — Vol. 90, N 24. — P. 11713—11717.
48. Lorenz U., Bergemann A. D., Steinberg H. N. et al. // *J. Exp. Med.* — 1996. — Vol. 184, N 3. — P. 1111—1126.
49. Lorenz U., Ravichandran K. S., Burakoff S. J., Neel B. G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1996. — Vol. 93, N 18. — P. 9624—9629.
50. Maeda A., Kurosaki M., Ono M. et al. // *J. Exp. Med.* — 1998. — Vol. 187, N 8. — P. 1355—1360.
51. Mendez R., Myers M. G., Jr., White M. F., Rhoads R. E. // *Mol. Cell. Biol.* — 1996. — Vol. 16, N 6. — P. 2857—2864.
52. Migone T. S., Cacalano N. A., Taylor N. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1998. — Vol. 95, N 7. — P. 3845—3850.
53. Miralpeix M., Sun X. J., Backer J. M. et al. // *Biochemistry.* — 1992. — Vol. 31, N 37. — P. 9031—9039.
54. Mothe I., Van Obberghen E. // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271, N 19. — P. 11222—11227.
55. Muta T., Kurosaki T., Misulovin Z. et al. // *Nature.* — 1994. — Vol. 369, N 6478. — P. 340—342.
56. Myers M. G., Jr., Wang L. M., Sun X. J. et al. // *Mol. Cell. Biol.* — 1994. — Vol. 14, N 6. — P. 3577—3587.
57. Myers M. G., Jr., Zhang Y., Aldaz G. A. et al. // *Ibid.* — 1996. — Vol. 16, N 8. — P. 4147—4155.
58. Noguchi T., Matozaki T., Horita K. et al. // *Ibid.* — Vol. 14, N 10. — P. 6674—6682.
59. Okada T., Kawano Y., Sakakibara T. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1994. — Vol. 269, N 5. — P. 3568—3573.
60. Okada T., Sakuma L., Fukui Y. et al. // *Ibid.* — P. 3563—3567.
61. Ono M., Bolland S., Tempst P., Ravetch J. V. // *Nature.* — 1996. — Vol. 383, N 6597. — P. 263—266.
62. Ono M., Okada H., Bolland S. et al. // *Cell.* — 1997. — Vol. 90, N 2. — P. 293—301.
63. Paulson R. F., Vesely S., Siminovich K. A., Bernstein A. // *Nature Genet.* — 1996. — Vol. 13, N 3. — P. 309—315.
64. Pawson T. // *Nature.* — 1995. — Vol. 373, N 6515. — P. 573—580.
65. Pelicci G., Lanfranccone L., Grignani F. et al. // *Cell.* — 1992. — Vol. 70, N 1. — P. 93—104.
66. Platanias L. C., Uddin S., Yetter A. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271, N 1. — P. 278—282.
67. Pluskey S., Wandless T. J., Walsh C. T., Shoelson S. E. // *J. Biol. Chem.* — 1995. — Vol. 270, N 7. — P. 2897—2900.
68. Plutzky J., Neel B. G., Rosenberg R. D. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1992. — Vol. 89, N 3. — P. 1123—1127.
69. Pons S., Asano T., Glasheen E. et al. // *Mol. Cell. Biol.* — 1995. — Vol. 15, N 8. — P. 4453—4465.
70. Rordorf-Nikolic T., Van Horn D. J., Chen D. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1995. — Vol. 270, N 8. — P. 3662—3666.
71. Roth R. A., Cassell D. J. // *Science.* — 1983. — Vol. 219, N 4582. — P. 299—301.
72. Rothenberg P. L., Lane W. S., Karasik A. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1991. — Vol. 266, N 13. — P. 8302—8311.
73. Sasaoka T., Draznin B., Leitner J. W. et al. // *Ibid.* — 1994. — Vol. 269, N 14. — P. 10734—10738.
74. Schlessinger J. // *Trends Biochem. Sci.* — 1988. — Vol. 13, N 11. — P. 443—447.
75. Skolnik E. Y., Lee C. H., Batzer A. et al. // *EMBO J.* — 1993. — Vol. 12, N 5. — P. 1929—1936.
76. Stein-Gerlach M., Wallasch C., Ullrich A. // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* — 1998. — Vol. 30, N 5. — P. 559—566.
77. Su L., Zhao Z., Bouchard P. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271, N 17. — P. 10385—10390.
78. Sun X. J., Rothenberg P., Kahn C. R. et al. // *Nature.* — 1991. — Vol. 352, N 6330. — P. 73—77.
79. Sun X. J., Wang L. M., Zhang Y. et al. // *Ibid.* — 1995. — Vol. 377, N 6545. — P. 173—177.
80. Sun X. J., Pons S., Asano T. et al. // *J. Biol. Chem.* — 1996. — Vol. 271, N 18. — P. 10583—10587.
81. Sun X. J., Pons S., Wang L. M. et al. // *Mol. Endocrinol.* — 1997. — Vol. 11, N 2. — P. 251—262.
82. Tanti J. F., Gremeaux T., van Obberghen E., Le Marchand-Brustel Y. // *J. Biol. Chem.* — 1994. — Vol. 269, N 8. — P. 6051—6057.
83. Tauchi T., Feng G. S., Marshall M. S. et al. // *Ibid.* — N 40. — P. 25206—25211.
84. Tobe K., Tamamoto H., Yamauchi T. et al. // *Ibid.* — 1995. — Vol. 270, N 11. — P. 5698—5701.

85. Uddin S., Yenush L., Sun X. J. et al. // *Ibid.* — N 27. — P. 15938—15941.
86. Ulrich A., Schlessinger J. // *Cell.* — 1990. — Vol. 61, N 2. — P. 203—212.
87. Valius M., Kazlauskas A. // *Ibid.* — 1993. — Vol. 73, N 2. — P. 321—334.
88. Velloso L. A., Foili F., Sun X. J. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1996. — Vol. 93, N 22 — P. 12490—12495.
89. Viuri K., Ruoslahti E. // *Science.* — 1994. — Vol. 266, N 5190. — P. 1576—1578.
90. Wennstrom S., Hawkins P., Cooke F. et al. // *Curr. Biol.* — 1994. — Vol. 4, N 5. — P. 385—393.

91. White M. F., Maron R., Kahn C. R. // *Nature.* — 1985. — Vol. 318, N 6042 — P. 183—186.
92. White M. F. // *Mol. Cell. Biochem.* — 1998. — Vol. 182, N 1—2 — P. 3—11.
93. Yamauchi K., Milarski K. L., Saltiel A. R., Pessin J. E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1995. — Vol. 92, N 3. — P. 664—668.
94. Yamanashi Y., Baltimore D. // *Cell.* — 1997. — Vol. 88, N 2. — P. 205—211.
95. Yao R., Cooper G. M. // *Science.* — 1995. — Vol. 267, N 5206. — P. 2003—2006.

Поступила 30.05.99

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2001

УДК 617.586-02:616.379-008.64]-092(048.8)

О. В. Удовиченко, М. Б. Анфицеров, А. Ю. Токмакова

ПАТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ РОЛЬ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ МИКРОАНГИОПАТИИ В РАЗВИТИИ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ

Эндокринологический научный центр (дир. — акад. РАМН И. И. Дедов) РАМН, Москва

Основными патогенетическими механизмами, приводящими к поражению нижних конечностей при сахарном диабете (СД), принято считать диабетическую нейропатию (ДН), макроангиопатию и микроангиопатию (МАП). Однако если действие первых двух механизмов развития синдрома диабетической стопы изучено достаточно хорошо, то вопрос о самостоятельной роли диабетической МАП в деструкции тканей стоп остается открытым, что, в частности, отражено в материалах Международного консенсуса по проблемам диабетической стопы [30].

С одной стороны, широкое распространение получила концепция, рассматривающая большинство поражений стоп при СД как проявление "заболевания малых сосудов", т. е. микроциркуляторного русла (МЦР). Однако эта теория была основана на результатах ретроспективного морфологического анализа тканей ампутированных конечностей (что делает вероятными вторичные изменения МЦР). Ограничения данной концепции подробно обсуждаются в современной литературе [12]. С другой стороны, определенная противоречивость современных данных во многом связана с недостаточной надежностью и косвенным характером ряда методов, применяемых для оценки состояния МЦР в клинических условиях (лазерная доплеровская флоуметрия, термография и др.).

Все это делает необходимым исследование МЦР как на функциональном, так и на морфологическом (путем прижизненной биопсии кожи и других тканей) уровне.

Морфологические изменения тканей нижних конечностей при СД

Кожа

Наиболее важный аспект, на который обращено внимание многих исследователей, — это поражение МЦР кожи вследствие диабетической МАП.

Работ, посвященных морфологическим изменениям кожи стоп при СД, сравнительно немного [5, 53]. В остальных работах изучали кожу других зон — живота, бедра, предплечья. Однако при сравнении данных разных авторов оказывается, что при СД

кожа различных областей претерпевает в целом сходные изменения. Действительно, причиной МАП является хроническая гипергликемия, которая сходным образом действует на все микрососуды данной ткани. В то же время следует помнить, что при синдроме диабетической стопы избыточное давление может приводить к некрозу кожи в определенных участках (например, под патологическим гиперкератозом), однако эти изменения при всей тяжести поражения вызваны локальными причинами, и их следует отличать от диффузного поражения, вызванного хронической гипергликемией.

Множество работ как отечественных, так и зарубежных авторов [1, 2, 7, 8, 11, 13] позволило охарактеризовать основные изменения МЦР при СД. Это дистрофические изменения эндотелиоцитов, в дальнейшем — повышение проницаемости сосудистой стенки для белков плазмы крови, активация перититов и гладкомышечных клеток сосудов, утолщение базальной мембраны и гиалиноз артериол.

Подобные изменения выявляются при СД как типа 1, так и типа 2, и даже при СД типа 1 у детей [18, 36]; их выраженность пропорциональна длительности течения СД [7, 8]. Изменения, характерные для диабетической МАП, обнаруживаются у 82,3—88,6% пациентов [7, 8] лишь у 33—38% лиц без СД [65, 70].

Большое внимание исследователей было уделено возможной патогенетической роли выявляемых морфологических изменений МЦР в развитии осложнений СД, в частности деструктивных поражений стоп (синдрома диабетической стопы). Несмотря на кажущуюся очевидность такой связи и многочисленные данные о корреляции между морфологическими изменениями и нарушениями функции капилляров [64], способность МАП самостоятельно приводить к некрозу тканей стоп не доказана [12, 30].

Факт нарушенной регуляции тонуса микрососудов при СД не вызывает сомнений. В многочисленных работах [15, 21, 33, 50, 53] было обнаружено, что рефлекторные реакции капилляров на различные воздействия при СД (как типа 1, так и типа 2) нарушаются.