

УДК 591.28

# Метаболизм холестерина мозга и его нарушения: связь с нейродегенерацией и синаптической дисфункцией

А. М. Петров\*, М. Р. Касимов, А. Л. Зефирова

Казанский государственный медицинский университет МЗ РФ, кафедра нормальной физиологии, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49

\*E-mail: fysio@rambler.ru

Поступила в редакцию 11.09.2015

**РЕФЕРАТ** Холестерин биологических мембран является не только важным структурным компонентом, но и принимает участие в компартиментализации и сигнализации. Особенно высоко содержание холестерина в мозге, где он концентрируется в миелине и синаптических мембранах. Исследования последних лет указывают на особое значение холестерина в осуществлении синаптической передачи, также предполагается наличие взаимосвязей между изменениями гомеостаза холестерина и дисфункциями нервной системы. Нарушение синтеза, утилизации и транспорта холестерина в мозге наблюдается при многих нейродегенеративных заболеваниях. Однако до сих пор непонятно, на каком этапе происходят альтерации метаболизма холестерина и какое место это занимает в патогенезе. Одной из причин когнитивных нарушений и массивной нейродегенерации могут быть процессы, связанные с дефектами синаптической передачи. При этом аномалии в обмене холестерина могут выступать в роли пусковых факторов развития дисбаланса синаптической передачи. В данном обзоре мы сфокусировались на описании гомеостаза мозгового холестерина в норме и при ряде патологий (болезни Гентингтона, Нимана–Пика типа С, синдроме Смита–Лемли–Опица), рассмотрели возможные механизмы влияния мембранного холестерина на синаптические процессы. Нарушения обмена холестерина при болезни Альцгеймера, Паркинсона и расстройствах аутистического спектра будут рассмотрены в следующей статье.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** липидные рафты, нейродегенеративные заболевания, оксистеролы, синаптическая передача, холестерин.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** ABC – АТФ-связывающие кассетные транспортеры; ACAT1 – ацетил-СоА-холестерин-ацилтрансфераза; ApoE – аполипопротеин E; BDNF – нейротрофический фактор мозга; ГМГ-СоА – 3-гидрокси-3-метилглутарил-СоА; ГХ – гидроксистерол; ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; Dhcr7 – 7-дегидрохолестеролредуктаза; LDL-рецептор – рецептор липопротеинов низкой плотности; LRP – белок, подобный рецептору LDL; LX-рецептор – печеночный рецептор X; МЦД – метил-β-циклодекстрин; CYP46A1 – холестерин-24-гидроксилаза; CYP27A1 – холестерин-27-гидроксилаза; CYP7B1 – оксистерол-7α-гидролаза; ЭПР – эндоплазматический ретикулум.

## БАЛАНС ХОЛЕСТЕРИНА В МОЗГЕ

### Общие сведения об источниках холестерина в мозге

Холестерин – основной липидный компонент мозга (23–25% всего холестерина сосредоточено в мозге), содержание которого поддерживается на уровне 15–30 мг/г ткани, средний показатель в других тканях – 2–3 мг/г [1]. В течение эволюции холестерин приобрел специфические функции в ЦНС. Обогащенные холестерином миелиновые муфты

уменьшают проницаемость для ионов, позволяя электрическим импульсам распространяться вдоль аксонов с высокой скоростью. Изобилие холестерина в синаптических мембранах необходимо для формирования и стабилизации синаптического контакта, осуществления нейротрансмиссии. Продукция холестерина является лимитирующим фактором роста нервных отростков [2, 3].

В клетках млекопитающих холестерин синтезируется при участии более 30 ферментов. Вне ЦНС холестерин образуется как эндогенно (около 50–60%),

так и захватывается из липопротеинов (с усвоенными из пищи липидами), циркулирующих в крови. Однако липопротеины плазмы не проникают (или очень слабо проникают) через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), и почти весь (более 95%) холестерин мозга синтезируется *in situ* преимущественно в глиальных клетках [1]. Интенсивное проникновение стеролов из плазмы в мозг наблюдается только при нарушении ГЭБ [4]. Частичное нарушение проницаемости ГЭБ может происходить в процессе старения. Более выраженные повреждения ГЭБ выявлены при нейродегенеративных заболеваниях, что способствует развитию патологии [5, 6]. Так, у мышей с дефицитом перицитов, важного компонента ГЭБ, возникает прогрессирующая с возрастом нейродегенерация [4, 6].

Холестерин мозга сосредоточен в двух основных пулах. Меньший по размеру относительно быстро метаболизирующийся пул (время жизни 5–10 месяцев, 8 мг/г) представлен холестерином плазматических мембран нейронов (10%) и глии (20%). Большая часть (70%) холестерина ЦНС содержится в миелине (40 мг/г) и метаболически стабильна (время жизни ~ 5 лет) [7]. Максимальный синтез холестерина происходит во время активной миелинизации (первые недели–месяцы постнатального развития) мозга олигодендроцитами. При этом олигодендроциты используют для синтеза холестерина кетоновые тела (за счет метаболизирующих кетоны ферментов), концентрация которых в крови на порядок выше в период миелинизации. Если специфично нарушить синтез холестерина в олигодендроцитах, то они начнут захватывать холестерин из внеклеточных источников, но скорость миелинизации будет крайне медленной [8]. После завершения миелинизации синтез холестерина снижается на 90% и в зрелом мозге протекает с низкой интенсивностью преимущественно в астроцитах, а также в 5 раз медленнее – в нейронах [1]. Нейроны производят холестерин, необходимый для выживания, дифференцировки аксонов и дендритов, формирования новых «неэффективных» синапсов. Стимулировать образование холестерина нейронами может нейротрофический фактор мозга (BDNF) [9]. Для масштабного формирования функциональных синапсов (особенно пресинаптических частей, удаленных от сомы) требуется холестерин астроцитарного происхождения. Нейроны в культуре проявляют в 10 раз больше возбуждающей синаптической активности и образуют в 5–7 раз больше синапсов в присутствии астроцитов, что частично связано с продукцией холестерина астроцитами. В целом, продукция холестерина нейронами важна на ранних стадиях развития мозга, тогда как для взрослого организма не требуется синтез холестерина нейронами [1, 7].

### Регуляция синтеза холестерина

Синтез холестерина начинается с превращения ацетил-СоА ферментом ГМГ-СоА-синтетазой в 3-гидрокси-3-метилглутарил-СоА (ГМГ-СоА), который затем конвертируется ГМГ-СоА-редуктазой в мевалонат. Последняя реакция представляет собой лимитирующий и необратимый этап биосинтеза холестерина, который ингибируется статинами. Существуют два пути синтеза холестерина (рис. 1). В нейронах обнаруживаются преимущественно стеролы, принадлежащие к пути Kandutsch-Russell (7-дегидрохолестерин, ланостерол), тогда как в астроцитах – к пути Bloch (десмостерол) [10]. Холестерин синтезируется на территории эндоплазматического ретикулума (ЭПР). Причем содержание холестерина в ЭПР подвержено более сильным колебаниям, чем в плазматической мембране, и именно от концентрации холестерина в ЭПР зависит его синтез клеткой. ЭПР содержит неактивный связанный с мембраной фактор транскрипции SREBP-2 (белок, связывающий регулируемый стеролами элемент), который взаимодействует с неактивной протеазой SCAP (белок, расщепляющий и активирующий SREBP), содержащей чувствительный к холестерину домен. Когда холестерина много, комплекс SREBP-2/SCAP удерживается в ЭПР молекулами INSIG-1 и -2 (белки 1 и 2, индуцируемые инсулином). При снижении содержания холестерина в ЭПР INSIG отсоединяется от комплекса SREBP-2/SCAP, при этом комплекс направляется в аппарат Гольджи, где SREBP-2 расщепляется протеазой SCAP с образованием активного несвязанного с мембраной N-концевого домена SREBP-2, проникающего в ядро и запускающего экспрессию более 30 генов, содержащих SRE (элемент, регулируемый стеролами) в промоторной области и ответственных за синтез холестерина (рис. 2) [1, 10–12].

При дефиците SCAP содержание холестерина в мозге снижается на 30–40%, что сопровождается нарушением синаптической передачи [13]. Мутация SCAP в астроцитах ведет к микроцефалии, моторным и поведенческим дефектам, которые можно снизить, увеличив потребление холестерина с пищей [14]. Отсутствие SCAP в шванновских клетках вызывает задержку формирования миелина с типичными неврологическими симптомами, тремором и атактической походкой [15]. Блокирование синтеза холестерина снижает экспрессию ряда белков, образующих комплексы с холестерином, например, основных белков миелина [8].

Однажды синтезированный холестерин покидает ЭПР везикулярным и неvesикулярным путем (при участии переносчиков) и направляется в плазматическую мембрану, в результате в ЭПР поддержи-

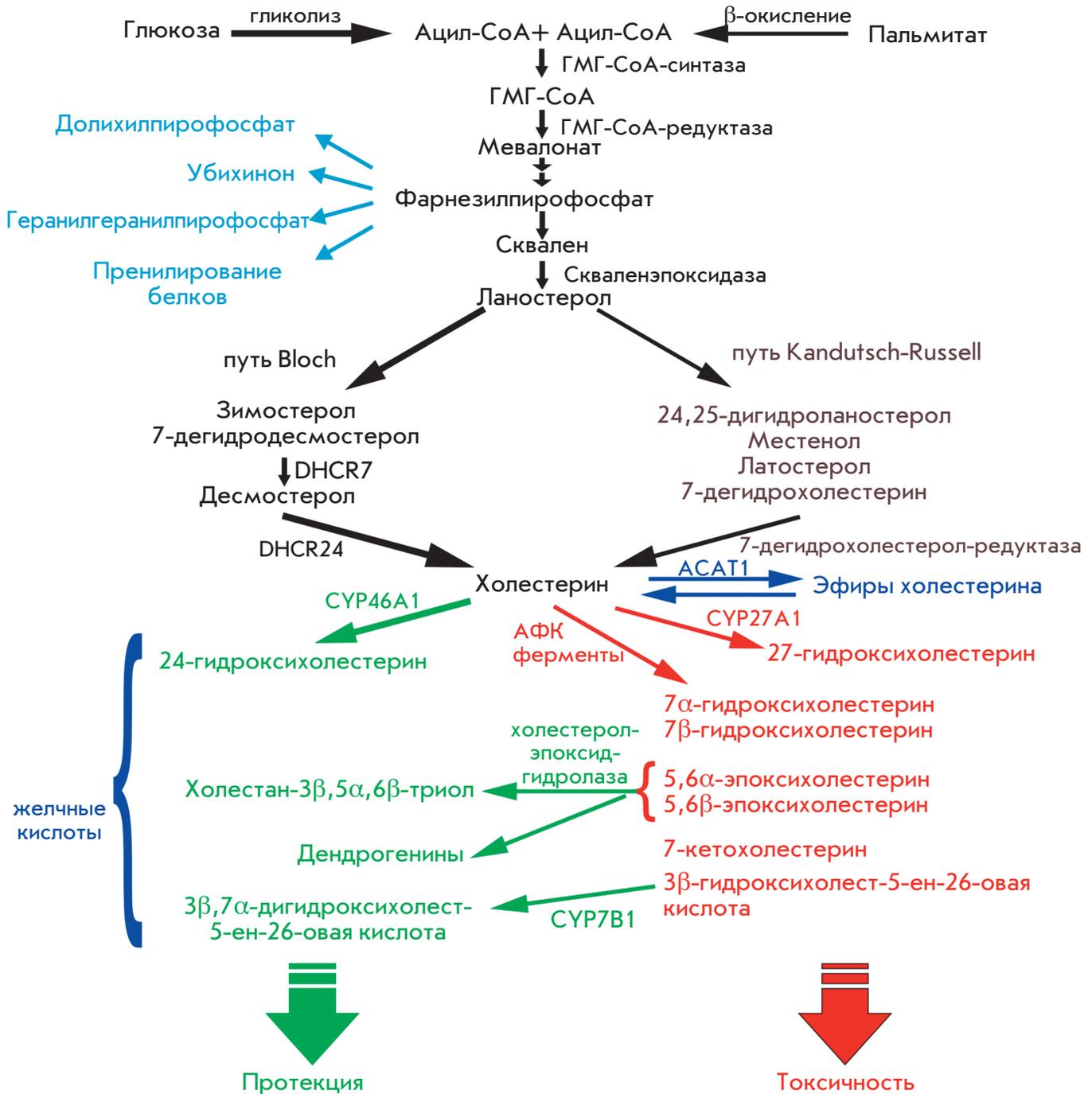


Рис. 1. Синтез холестерина и образование оксистеролов. Холестерин образуется из ацетил-СоА в ходе многоступенчатого ферментативного процесса. Известны два пути синтеза холестерина, Bloch и Kandutsch-Russell. Холестерин может депонироваться в виде эфиров или окисляться ферментативным и неферментативным путем с образованием оксистеролов. Описано большое разнообразие оксистеролов, каждый из которых может специфически влиять на клеточные процессы. Подробные объяснения в тексте

вается низкий уровень холестерина. Образование контакта между ЭПР и плазматической мембраной может быть кратчайшим путем транспорта липидов из мест синтеза к поверхности клетки [11, 16].

### Депонирование, эфиры холестерина

В нейронах и других клетках избыток холестерина может превращаться в эфиры холестерина. Во взрослом мозге ~1% холестерина представлен эфирами и входит в состав липидных капель. Кратковременный пик этерификации, которой подвергаются более 5% холестерина, наблюдается в отдельном регионе мозга в начале периода миелинизации. Эфиры холестерина могут служить резервом, который используется при миелинизации и формировании синаптических контактов. Накопление эфиров может быть связано с увеличением активности ацетил-СоА-холестерин-ацилтрансферазы (АСАТ1/СОАТ1), вызванного повышением уровня холестерина в ЭПР. Ингибирование АСАТ1 сильно (на 86%) снижает концентрацию эфиров холестерина. Нейротоксичные компоненты и окислительный стресс, наоборот, увеличивают активность АСАТ1 [17]. АСАТ1 более активна в нейронах, чем в глиальных клетках. Однако в астроцитах АСАТ1 активируется при нарушении выброса холестерина или перегрузки экзогенным холестерином [18]. Основной субстрат для этерификации холестерина поставляется фермент ЭПР стерол-СоА-десатураза, которая катализирует синтез мононенасыщенных жирных кислот из насыщенных жирных кислот [11].

В клетке эфиры холестерина постоянно разрушаются гидролазой. В норме уровень эфиров холестерина в мозге низкий и гидролаза способна превращать их в холестерин. При значительном повышении концентрации эфиров гидролаза «не справляется», и эфиры холестерина образуют липидные капли в цитоплазме нейронов [1].

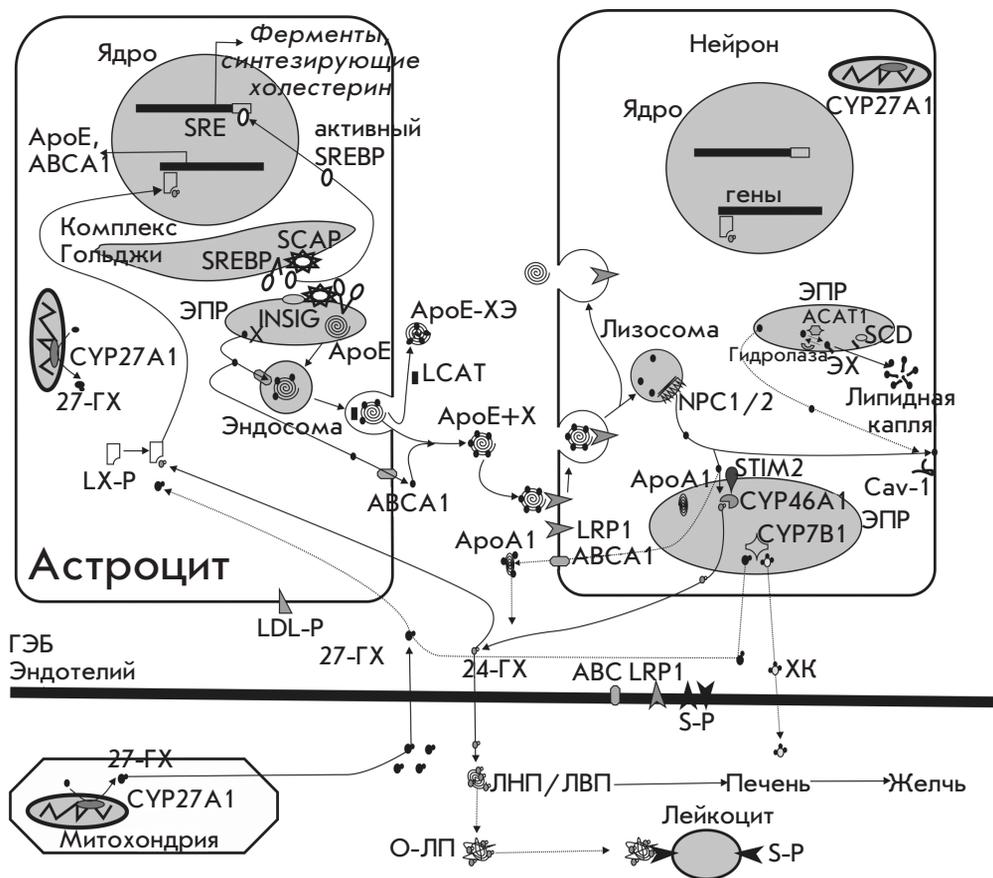
### Межклеточный транспорт холестерина

Для транспорта холестерина мозг использует свои собственные липопротеины, состоящие из апо-липопротеинов (в основном Е, 39 кДа) и липидов. Астроциты – главные продуценты холестерина и апо-липопротеина Е (АроЕ), которые вместе с фосфолипидами собираются в липопротеиновые комплексы (АроЕ-частицы) (рис. 2). Сердцевина липопротеиновых частиц собирается в ЭПР, а обогащение липидами и секреция АроЕ-частиц осуществляются с помощью одного или нескольких АТФ-связывающих кассетных транспортеров (АВС), таких, как АВСА1, АВСГ1 и АВСГ4 [19–21]. АВСА1 катализирует начальную стадию переноса липидов на «свободные» апо-липопротеины, формируя «рож-

дающиеся» частицы, которые затем полностью «наполняются» липидами и выбрасываются из клетки на второй стадии процесса с участием АВСГ1/АВСА1 [22]. Недостаточно обогащенные липидами частицы (например, при дефиците АВСА1) быстрее катаболизируются, что сопровождается снижением уровня АроЕ в мозге. Инактивация АВСА1 в мозге вызывает астроглиоз и усиление экспрессии воспалительных генов, а также изменяет синаптическую передачу и сенсомоторное поведение [23].

Главными потребителями липопротеинов являются нейроны, которые захватывают липопротеины с помощью рецепторов, принадлежащих к семейству рецепторов липопротеинов низкой плотности: LDL-рецепторы и белки, подобные LDL-рецепторам (LRP, LRP1B, LRP2/мегалин, LRP4, LRP5/6, LRP8/APOER2, LRP11/SORL1). Эти рецепторы связывают также белки, участвующие в развитии мозга (Sonic hedgehog, Wnt, релин), протеазы и ингибиторы протеаз ( $\alpha_2$ -макроглобин), переносчики витаминов, шапероны, медиаторы воспаления [21]. Основным рецептором, опосредующим захват АроЕ-частиц – LRP1, характеризуется высокой транспортной емкостью за счет высокой скорости эндоцитозного рециклирования (рис. 2). LRP1 экспрессируется преимущественно в нейронах, а рецептор LDL – в глии [24]. Делеция LRP1 в нейронах ведет к глобальному нарушению метаболизма холестерина и нейродегенерации [25]. После рецептор-опосредованного эндоцитоза везикулы доставляют липидные частицы в поздние эндосомы/лизосомы. Сразу после эндоцитоза АроЕ отделяется от липидных компонентов и не направляется в лизосомы, а возвращается обратно на поверхность, т.е. подвергается рециклизации (рис. 2) [26]. Холестерин покидает поздние эндосомы/лизосомы при участии белков NPC1 и NPC2 и направляется в плазматическую мембрану или мембрану ЭПР, содержанием холестерина в которой по принципу отрицательной обратной связи (через путь SREBP-2/SCAP/INSIG-1) регулируются гены, вовлеченные в гомеостаз холестерина [16]. Предполагается, что в полости эндолизосомы холестерин связывается с NPC2 (трансмембранный белок), а затем взаимодействует с NPC1 (внутрилюминальный белок). В итоге холестерин оказывается огражденным от водной среды белками NPC1 и NPC2, после чего перебрасывается в ЭПР или плазматическую мембрану [27].

Взаимодействие между АроЕ-частицами и рецепторами запускает пути внутриклеточной сигнализации, что важно для нормального функционирования и выживания нейронов [20, 21]. Например, синтез АроЕ глиальными клетками более чем в 150 раз ускоряет репарацию нерва после повреждения [28].



**Рис. 2.** Метаболизм холестерина в мозге. Нейрон-глиальные отношения. Основное количество холестерина (X) во взрослом мозге продуцируется астроцитами с помощью ферментов эндоплазматического ретикулума (ЭПР). Синтез холестерина регулируется белками INSIG, SREBP и SCAP. При высоком уровне холестерина все белки удерживаются в составе комплекса в ЭПР, а снижение уровня холестерина вызывает распад комплекса, перемещение SREBP и SCAP в комплекс Гольджи, где протеаза SCAP отщепляет от SREBP активный фактор транскрипции, проникающий в ядро и запускающий экспрессию генов, отвечающих за синтез и транспорт холестерина. На территории ЭПР собирается липопротеиновая частица с ApoE, которая попадает в эндосомы и секретируется во внеклеточную среду. Вновь синтезированный холестерин неvesикулярным путем с помощью АТР-связывающих кассетных транспортеров (ABCA1) переносится из ЭПР в эндосомы или во внеклеточную среду. Инкрустированные холестерином ApoE-частицы взаимодействуют с рецепторами на нейронах (LRP1), захватываются посредством эндоцитоза и направляются в лизосомы/поздние эндосомы. В эндолизосомах холестерин при участии белков NPC1 и 2 перемещается в плазматическую мембрану или в ЭПР. В доставке холестерина в плазматическую мембрану принимает участие кавеолин-1 (Cav-1). В ЭПР находится CYP46A1, окисляющий холестерин до 24-гидроксистерина (24-ГХ), способного проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и попадать в циркуляцию, где связывается с липопротеинами низкой и высокой плотности (ЛНП, ЛВП). Избыток 24-ГХ в крови может окислять липопротеины плазмы (О-ЛП), которые с помощью сквенджер-рецептора (S-P) могут накапливаться в лейкоцитах. 24-ГХ связывается с цитоплазматическими LX-рецепторами астроцитов (и нейронов), затем комплекс 24-ГХ/LX-рецептор проникает в ядро и индуцирует экспрессию генов ApoE и ABCA1, способствующих доставке холестерина из астроцитов в нейроны. Часть холестерина в составе комплексов с ApoA1 может выбрасываться из нейронов и перебрасываться через ГЭБ. Избыток холестерина в ЭПР подвергается этерификации при участии фермента ACAT1, образующиеся эфиры холестерина откладываются в виде капель в цитоплазме. Фермент стерол-СоА-десатураза (SCD) поставляет мононенасыщенные жирные кислоты для этерификации холестерина. Образование эфиров холестерина (в составе ApoE-частиц, ApoE-XЭ) во внеклеточной среде связано с ферментом LCAT, секретируемым астроцитами. В митохондриях многих клеток (в частности, макрофагов) присутствует фермент CYP27A1, окисляющий холестерин до 27-гидроксистерина (27-ГХ), который может проникать в мозг через ГЭБ и менее эффективно, чем 24-ГХ, активировать LX-рецептор. 27-ГХ может преобразовываться ферментом нейронов CYP7B1 в 7 $\alpha$ -гидрокси-3-оксо-4-холестеновую кислоту (ХК), которая выбрасывается из мозга в циркуляцию. Хотя ГЭБ не пропускает холестерин крови в мозг, эндотелиальные клетки ГЭБ содержат ABC-транспортеры, LRP1 и S-P, что указывает на существование путей взаимного влияния мозгового и периферического холестерина

### Экскреция холестерина из мозга. Оксистеролы

Из организма человека ежедневно выводится около 1 г холестерина: 0,5 г в виде желчных кислот, 0,5 г – как неметаболизированный холестерин или бактериальный метаболит копростанол. В мозге практически отсутствуют механизмы разрушения холестерина. Однако 0,02–0,04% (6–12 мг) холестерина мозга удаляются каждый день [1] преимущественно в форме 24-гидроксихолестерина (24-ГХ, 6–8 мг/день). 24-ГХ (в гомогенате мозга, 30 мкМ) проникает через ГЭБ (диффузией или при участии анионного транспортера, *oatp2*), в крови связывается с липопротеинами низкой плотности, поглощается гепатоцитами и выводится в составе желчи [7]. Небольшая часть холестерина покидает мозг в виде АроЕ/А-частиц через ГЭБ. Экспрессирующийся преимущественно в нейронах ABCA1 способен освобождать избыток холестерина в виде АроА1-частиц, которые перебрасываются через ГЭБ при участии LRP1 и скавенджер-рецептора класса 1 В (SR1В) [29]. Увеличение или снижение экспрессии ABCA1 в нейронах усиливает или снижает выведение холестерина соответственно [20].

24-ГХ продуцируется холестерин-24-гидроксилазой (СУР46А1), которая в норме экспрессируется в телах и дендритах некоторых нейронов (больших пирамидных клетках коры, гиппокампа, миндаля, скорлупы, таламуса, клетках Пуркинье) (рис. 2) [7]. При патологических состояниях и после травмы СУР46А1 может появиться в ненейрональных клетках (астроциты, микроглия, макрофаги) [11]. В мозге 24-ГХ (как и другие оксистеролы) активирует ядерный LX-рецептор астроцитов и нейронов, который усиливает экспрессию белков, обеспечивающих синтез холестерина и его транспорт (ABCA1, АроЕ). Следовательно, увеличение выведения холестерина из мозга способствует его синтезу в астроцитах и доставке нейронам. Повышение же уровня холестерина в ЭПР может стимулировать СУР46А1 [1]. Таким образом, в мозге формируется кругооборот продукции и экскреции холестерина. Если его остановить за счет мутации гена СУР46А1 (мыши СУР46А1 -/-, содержание 24-ГХ у которых составляет 5% от уровня у мышей дикого типа), то концентрация холестерина в мозге не возрастет, так как на 40–50% уменьшится его производство [7]. Сверхэкспрессия СУР46А1, увеличивающая продукцию 24-ГХ, также не изменяет уровень холестерина, так как возрастает его синтез [30]. Образование 24-ГХ в нейронах подавляется этерификацией холестерина, поэтому удаление гена АСАТ1, на 13% снижающее общее содержание холестерина в мозге, на 32% повышает уровень 24-ГХ [17].

Повышение активности СУР46А1 наблюдается при стимуляции синаптической передачи. Уже через 30 мин синаптической активности в глутаматер-

гическом синапсе уровень мембранного холестерина немного, но достоверно снижается за счет освобождения 24-ГХ во внеклеточное пространство. При этом СУР46А1 перемещается от ЭПР к плазматической мембране и активируется. Этот процесс зависит от повышения уровня цитозольного  $Ca^{2+}$  и функционирования чувствительного к  $Ca^{2+}$  белка STIM2 в полости ЭПР [31]. По мере старения, в нейронах повышается продукция активных форм кислорода, которые усиливают экспрессию СУР46А1, в результате чего наблюдается прогрессирующая потеря холестерина синаптическими мембранами [32].

Другой оксистерол – 27-ГХ – главный метаболит холестерина в системной циркуляции, где его концентрация в норме составляет 0,15–0,73 мкМ, а при ряде патологий (например, при атеросклерозе) может достигать миллимолярного уровня [33]. 27-ГХ синтезируется из холестерина митохондриальным ферментом СУР27А1 почти во всех клетках (рис. 2). В нейронах, астроцитах и олигодендроцитах 27-ГХ образуется в очень низкой концентрации и выводится из мозга через ГЭБ [34]. Однако 27-ГХ, продуцируемый периферическими тканями, может проникать в мозг (5 мг/день). В норме соотношение 27-ГХ : 24-ГХ составляет 1 : 8 во фронтальной коре, 1 : 5 в затылочной коре и 1 : 10 в базальных ядрах [35]. Оксистерол-7 $\alpha$ -гидролаза (СУР7В1) катализирует превращение 27-ГХ в 7 $\alpha$ -гидрокси-3-оксо-4-холестеновую кислоту, которая удаляется через ГЭБ [1]. Интенсивное образование 27-ГХ происходит при гиперхолестеринемии и окислительном стрессе [34]. При окислительном стрессе существенная часть холестерина может превращаться в 27-ГХ, который аккумулируется в мозге, увеличивая риск нейродегенерации [33].

Макрофаги могут в значительных количествах производить 25-гидроксихолестерин (25-ГХ) с помощью холестерин-25-гидролазы, локализованной в ЭПР. В тканях (в том числе в мозге) экспрессия этого фермента повышается при индукции врожденного иммунного ответа, а образующийся 25-ГХ оказывает противовирусный эффект и способствует этерификации холестерина за счет усиления активности АСАТ1. В мозге концентрация 25-ГХ составляет примерно 1 мкМ и может локально повышаться при нейродегенеративных заболеваниях. Следует отметить, что синтез следовых количеств 25-ГХ могут катализировать СУР46А1 и СУР27А1, а метаболизируется 25-ГХ при участии СУР7В1 [36].

### ОСТРОВКИ ХОЛЕСТЕРИНА В МОЗГЕ

#### Кратко о липидных рафтах

В нервной системе связь между организацией мембраны и клеточными процессами более выражена,

чем в других тканях. Нейроны и в меньшей степени глия – высокополяризованные клетки, содержащие различные мембранные компартменты: аксон, дендриты, синаптические мембраны, миелиновые муфты, перехваты и т.п. Даже внутри отдельного региона мембраны молекулы движутся не свободно, а формируют микродомены, обогащенные холестерином и сфинголипидами (липидные рафты). Холестерин выступает в роли «клея», объединяя липидные и белковые компоненты в микродомен [37]. Сфинголипиды (в частности, гликолипиды) мозга характеризуются высокой степенью структурного разнообразия, и отдельные популяции нейронов, глиальных клеток и разные рафты одной клетки обогащены различными гликолипидами. В ходе развития мозга и дифференцировки нейронов наблюдается увеличение экспрессии и разнообразия гликолипидов [3]. Нарушение синтеза сложных гликолипидов в нейронах вызывает тяжелые неврологические/синаптические нарушения и гибель в течение 3 недель после рождения [38]. В целом, липидный состав рафтов мозга зависит от региона, типа клетки и стадии развития. Отдельные рафты могут включать специфичные белковые компоненты (рецепторы, ионные каналы, белки экзо- и эндоцитоза, ферменты), которые на территории рафта создают сигнальные комплексы/специализированные компартменты [3, 24]. Например, высокое содержание холестерина/рафтов – одна из причин существенно более медленной диффузии многих белков в синаптических сайтах, чем во внесинаптических регионах [39]. Увеличение концентрации холестерина и сфинголипидов усиливает объединение (коалесценцию) рафтов, вызывая появление в мембране больших (микрометровых) стабильных суперрафт-доменов (платформ). В живых клетках липидные платформы могут формироваться за счет сцепления содержащихся в разных рафтах белков при их связывании с одной и той же молекулой внеклеточного лиганда (например, фактора роста) или каркасными белками и белками цитоскелета. Фосфорилирование обычно облегчает слияние белков рафтов за счет усиления белок-белковых взаимодействий. Слияние рафтов имеет значение в мембранном транспорте, в трансдукции сигналов и других процессах [3].

С рафтами ассоциированы многие вовлеченные в сигнализацию белки, в том числе кавеолы, которые имеют каркасный домен, служащий сайтом взаимодействия с метаболитными рецепторами, G-белками, NO-синтазой, аденилатциклазой, фосфоинозитол-3-киназой, MAP-, Src-киназами, протеинкиназами A и C [40]. В нейронах кавеолин-1 локализуется со специфичным каркасным постсинаптическим белком PSD-95, глутаматными NMDA-

рецепторами, а его нокаут вызывает потерю синапсов [41]. Ишемия мозга может разрушать ассоциированные с кавеолинами сигнальные комплексы в нейронах. Высокая экспрессия кавеолина-1 усиливает активность сигнальных молекул, обеспечивающих выживание и рост, делая мозг более устойчивым к ишемическому повреждению [40].

### **Липидные рафты и внутренне неупорядоченные белки**

Белки, у которых отсутствует хорошо определяемая трехмерная структура, относятся к внутренне неупорядоченным белкам. Они составляют часть протеома, называемую *unfoldome*, и зачастую участвуют в сигнализации и мембранном транспорте [42, 43]. В число этих белков входят  $\alpha$ -синуклеин, APP (белок-предшественник амилоида), PrP (прионные белки), белок гентингтин и tau. Конформация этих белков зависит от окружения и может существенно изменяться. При определенных условиях (сверхпродукция, мутации, «пагубное» окружение)  $\alpha$ -синуклеин, APP, PrP могут приобретать «патологическую» трехмерную структуру. Возможно, ведущую роль в превращении нормальных белков в патологические играют мембраны. При оседании на мембранах происходит концентрирование белков, что способствует образованию их агрегатов.  $\alpha$ -Синуклеин, амилоидный пептид  $\beta$  (продукт расщепления APP), PrP взаимодействуют избирательно с липидными рафтами [44], в результате чего изменяется конформация белков, что может ускорять их агрегацию. Амилоидный пептид  $\beta$  узнает специфичные для рафтов гликофинголипиды (ганглиозид GM1, асиалоганглиозид GM1, галактозилцерамид) и холестерин,  $\alpha$ -синуклеин – ганглиозиды GM1 и GM3, PrP – сфингомиелин, галактозилцерамид, ганглиозиды GM1 и GM3 [42]. Эти белки в избытке представлены в синапсах, мембраны которых особенно богаты упомянутыми ганглиозидами [45]. От локальных значений pH, концентрации холестерина, текучести микроучастка зависят сила взаимодействия и тип получающегося агрегата (глобулярная или фибриллярная структура) и, следовательно, его токсичность. Холестерин усиливает/ослабляет связывание этих белков со сфинголипидами, включающими негидроксилированные/гидроксилированные ацильные группы. При увеличении концентрации ганглиозидов GM1, снижении количества холестерина и белков в рафтах амилоидный пептид  $\beta$  связывается с мембраной и образует токсичные фибриллы, тогда как повышение содержания холестерина в мембранах ингибирует агрегацию амилоидного пептида  $\beta$  [46]. Мембраны могут катализировать превращение зрелых амилоидных фибрилл (слабо токсичных) в протофибриллярное

состояние, характеризующееся высокой токсичностью [47], т.е. амилоидные бляшки могут быть нестабильными и при изменении состояния липидных рафтов могут превращаться в источник токсичных протофибрилл. Олигомеры амилоидных пептидов  $\beta$  могут взаимодействовать с белками – резидентами рафтов, такими, как глутаматный NMDA-рецептор, метаботропный глутаматный рецептор 5, PrP. В итоге олигомеры способствуют формированию больших платформ, нарушающих функционирование синаптического аппарата [24, 44]. В целом, сами внутренне неупорядоченные белки потенциально способны изменять структуру рафтов и мембран [42, 43].

### ХОЛЕСТЕРИН И СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА

В самом общем виде механизм передачи информации в синапсе можно представить следующим образом (рис. 3). Пресинаптические нервные окончания содержат большое количество синаптических везикул, заполненных медиатором. В ответ на вызванный потенциалом действия вход  $\text{Ca}^{2+}$  через потенциал-зависимые  $\text{Ca}$ -каналы везикулы сливаются с пресинаптической мембраной (экзоцитоз), освобождая медиатор в синаптическую щель. Достигнув постсинаптических рецепторов, медиатор активирует их, в результате изменяется потенциал постсинаптической мембраны. Синаптическая передача – один из самых высокорегулируемых клеточных процессов. Длительные изменения ее эффективности лежат в основе интегративных феноменов и влияют на выживаемость и функционирование нейронов [37].

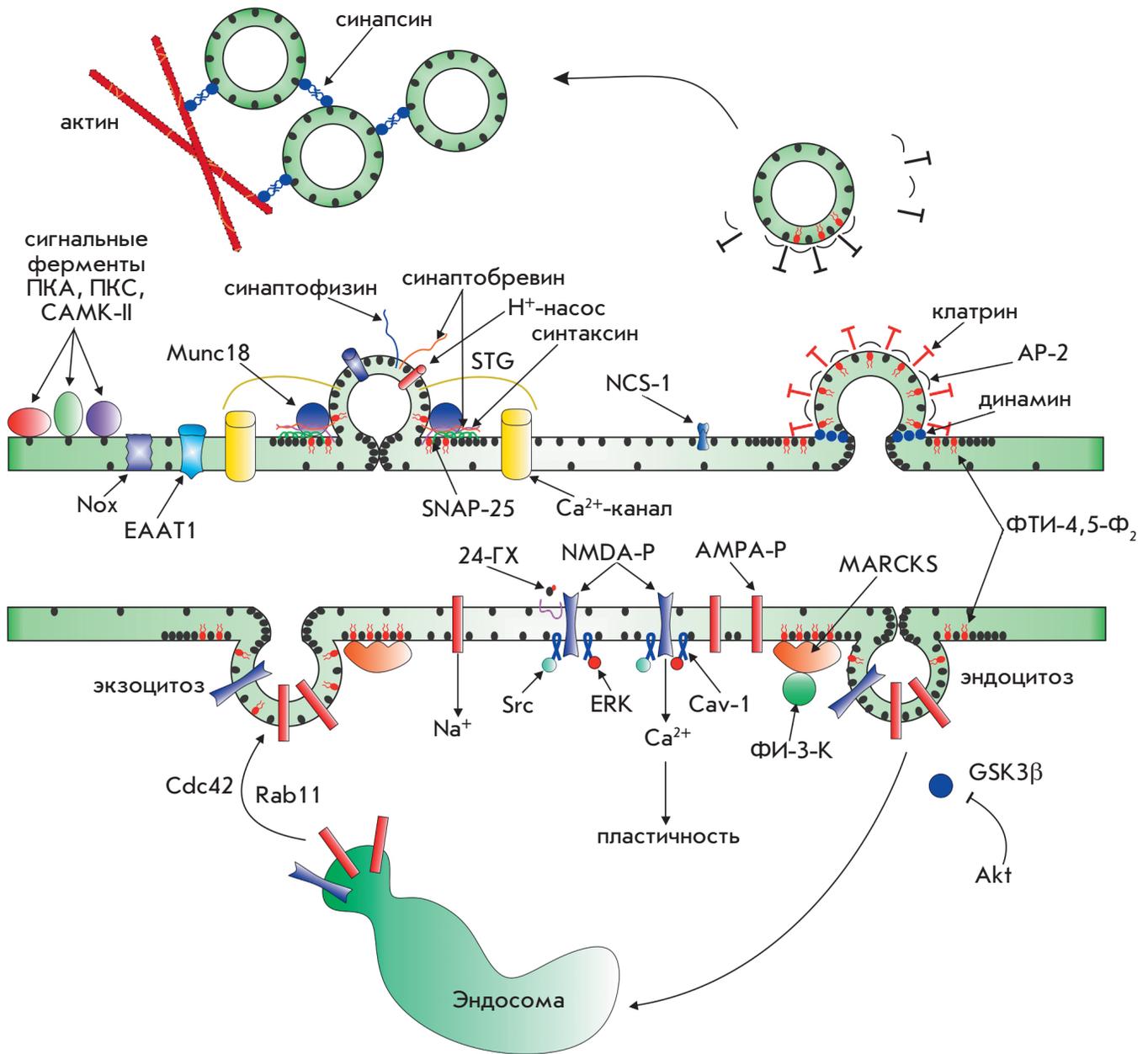
### Пресинаптические механизмы и холестерин

Роль холестерина в пресинаптических процессах, обеспечивающих высвобождение нейромедиатора, связана с его способностью непосредственно влиять на биофизические свойства мембран; прямо взаимодействовать с белками, регулирующими экзо- и эндоцитоз; участием в организации липидных рафтов.

В ходе экзоцитоза происходят радикальные изменения кривизны мембран, которые определяются составом липидов. Холестерин, в большом количестве представленный в синаптических везикулах (40% всех липидов) и пресинаптической мембране, поддерживает формирование сильно искривленных промежуточных мембранных структур в процессе слияния [48]. За счет способности к относительно легкому переходу между монослоями (флип-флопу) холестерин снижает «натяжение» мембран при деформациях, стабилизируя пору слияния. Холестерин способствует слиянию благодаря взаимодействию с везикулярными (синаптофизин) и пресинаптическими (синтаксин-1) белками [37, 49]. В сайтах экзоцитоза и мембранах везикул холестерин участвует

в формировании липидных рафтов [45]. В составе рафтов обнаружены ключевые белки везикул – протонный насос, синаптотагмины, синаптофизины, SV2, а также экзоцитозные белки пресинаптической мембраны – синтаксин, SNAP-25, синаптобревин, Munc18, потенциал-зависимые  $\text{Ca}$ -каналы [50]. Чем выше содержание белков экзоцитоза в рафтах, тем эффективнее протекает экзоцитоз. Разные изоформы синтаксина холестерин-зависимым образом могут формировать в мембране отдельные скопления. Это предполагает возможность образования сайтов экзоцитоза с различными свойствами [51]. Возможно, экзоцитоз может модулироваться слиянием/разделением отдельных рафтов. Например, с одной стороны, потенциал-управляемые  $\text{Ca}$ -каналы и SNARE-белки, а с другой, белок NCS-1 (нейрональный сенсор кальция 1), усиливающий активность  $\text{Ca}$ -каналов, локализуется в разных микродоменах, слияние которых может облегчать экзоцитоз [52]. Мутации в гене синапс-специфичной церамидазы SLAB, приводящие к перераспределению холестерина в пресинаптической мембране, уменьшают на ~70% способность везикул к слиянию. В рафтах могут концентрироваться анионные липиды, фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфаты, которые влияют на активность белков экзоцитоза и способность мембраны к деформации [49]. Оксистерол, 5 $\alpha$ -холестан-3-он, нарушающий стабильность синаптических рафтов, угнетает экзоцитоз и ограничивает популяцию синаптических везикул, вовлекаемую в нейротрансдукцию [53]. В целом, удаление даже небольшой фракции холестерина, ослабление его синтеза приводит к угнетению вызванного освобождения медиатора при низкой и высокочастотной активности [54, 55]. Нарушение метаболизма холестерина может нарушать кластеризацию синаптических везикул и угнетать ионные токи, формирующие потенциал действия [56, 57].

Мембранный холестерин избирательно способствует протеканию вызванного экзоцитоза, в то время как спонтанное освобождение нейромедиатора, наоборот, угнетается холестерином [54, 55, 58]. Возможно, холестерин ограничивает спонтанный экзоцитоз, предотвращая избыточную активацию ряда протеинкиназ (в частности, протеинкиназ A, C, CAMK-II) и сигнального пути NADPH-оксидаза-активные формы кислорода-TRPV1-каналы- $\text{Ca}^{2+}$ -кальцинейрин [58–60]. Поэтому при истощении мембранного холестерина усиливается спонтанный экзоцитоз, в результате может истощаться запас синаптических везикул, происходит десенситизация рецепторов, уменьшается локальный белковый синтез. Кроме того, снижение содержания холестерина усиливает невезикулярное освобождение нейромедиаторов в периферических и центральных синапсах [61, 62].



**Рис. 3.** Синаптическая передача: липид-белковые взаимодействия. Нейромедиатор освобождается из синаптических везикул, которые сливаются (экзоцитоз) в специализированном участке пресинаптической мембраны, активной зоне, в ответ на вход  $\text{Ca}^{2+}$  через потенциал-зависимые  $\text{Ca}$ -каналы. Слияние везикул опосредуется белками, формирующими SNARE-комплекс (синаптобrevин, синтаксин, SNAP-25), и регулируется многими холестеринсвязывающими белками (синаптотагмин/STG, Munc18, NCS-1) и сигнальными молекулами (протеинкиназами, NADPH-оксидазой/Nox). После слияния белковые и липидные компоненты везикул подвергаются клатрин-опосредованному эндоцитозу. Большая часть синаптических везикул формирует резервный пул, который освобождает нейромедиатор только в период длительной синаптической активности. Доставка этих везикул в сайты экзоцитоза зависит от актина и синапсина. В глутаматергическом синапсе освобождающийся нейромедиатор изменяет  $\text{Na}^+$ / $\text{Ca}^{2+}$ -проводимость постсинаптической мембраны, активируя AMPA/NMDA-рецепторы. Количество постсинаптических рецепторов зависит от экзо- и эндоцитозного трафика рецепторов, который управляется малыми GTP-азами (Rab11) и киназами (Cdc42, GSK3 $\beta$ , фосфоинозитол-3-киназа/ФИ-3-К). Зависимая от рецепторов сигнализация связана со многими белками (Src, ERK, Cav-1). На схеме изображены молекулы холестерина (черные) и их скопления, фосфоинозитол-4,5-бисфосфаты (ФИ-4,5- $\text{P}_2$ , красные), и белки, взаимодействующие с холестерином и ФИ-4,5- $\text{P}_2$ . Подробные объяснения в тексте

**Эндоцитоз синаптических везикул.** Эндоцитоз синаптических везикул предотвращает истощение их запаса при синаптической активности. После эндоцитоза везикулы заполняются нейромедиатором и доставляются в соответствующий пул. Холестерин может требоваться для облегчения инвагинации мембраны при эндоцитозе [37, 49]. Участки мембраны, обогащенные холестерином, способны активировать белки, участвующие в эндоцитозе [50]. Не исключено, что рафты в мембранах везикул предотвращают смешивание везикулярных белков с пресинаптическими, упрощая их сортировку в ходе эндоцитоза [45]. Фосфоинозитиды рафтов вовлечены в запуск эндоцитоза и кластеризацию везикулярных белков [49]. Удаление даже небольшого количества холестерина из мембран везикул ведет к блокированию эндоцитоза и накоплению мембранного материала везикул в плазматической мембране [54, 62].

### Постсинаптические процессы и холестерин

Изменения в количестве/составе постсинаптических рецепторов требуются для феномена синаптической пластичности. Подобные изменения происходят за счет эндо- и экзоцитоза рецепторов, их латеральной диффузии между экстра- и синаптическими участками (рис. 3). Транспорт рецепторов контролируется как взаимодействием рецепторов с каркасными белками, так и липидным составом мембраны [3]. Активность рецепторов и последующая сигнализация также часто зависят от содержания мембранного холестерина. Многие из постсинаптических рецепторов локализируются в рафтах [2, 3, 11, 12]. В целом, постсинаптическая плотность – массивный мультибелковый комплекс, включающий молекулы, участвующие в постсинаптической сигнализации и пластичности, физически ассоциирована с рафтами [39, 63]. В представленном обзоре мы уделим внимание только глутаматным AMPA- и NMDA-рецепторам.

Быстрое удаление холестерина подавляет токи через AMPA-рецепторы и их встраивание путем экзоцитоза [64]. Удаление холестерина/сфинголипидов в течение длительного времени увеличивает конститутивный эндоцитоз AMPA-рецепторов [63]. В нейронах с уровнем холестерина, сниженным (~ на 25%) в ходе естественного старения, наблюдается накопление AMPA-рецепторов на поверхности клетки вследствие нарушения их эндоцитоза и латеральной мобильности. Предполагается, что потеря холестерина ведет к отсоединению белка MARCKS от фосфоинозитол-4,5-бифосфатов мембраны, которые переводятся фосфоинозитол-3-киназой в фосфоинозитол-3,4,5-трифосфаты. Накопление последних стабилизирует F-актин, снижая подвижность постсинаптических AMPA-рецепторов,

и способствует активации киназы Akt, которая инактивирует киназу 3В гликогенсинтазы (GSK3β), участвующую в эндоцитозе AMPA-рецепторов [12].

Локализация NMDA-рецепторов в рафтах облегчает их олигомеризацию, а удаление холестерина угнетает вход  $Ca^{2+}$  через NMDA-рецепторы, способствует их десенситизации и ингибирует долговременную потенциацию в гиппокампе [65]. Наоборот, 24-ГХ, действуя как аллостерический модулятор, в субмикромольных концентрациях потенцирует опосредуемый NMDA-рецепторами ответ, способствуя индукции долговременной потенциации в срезах гиппокампа. Интересно, что 25-ГХ (в субмикромольной концентрации) препятствует развитию данного эффекта 24-ГХ [66]. Вход  $Ca^{2+}$  через NMDA-рецепторы может вызывать как феномены синаптической пластичности, так и гибель клетки (эксайтотоксичность), что зависит от величины потока  $Ca^{2+}$  и локализации рецепторов (в рафтах или нет, в синаптическом или внесинаптическом регионе). NMDA-рецепторы рафтов взаимодействуют с кавеолином-1, что важно для активации сигнального пути Src-киназа/ERK-киназа, способствующего выживанию нейронов. Поэтому локализованные в рафтах рецепторы в меньшей степени опосредуют эксайтотоксичность. При длительном воздействии агониста и ишемии NMDA-рецепторы перемещаются в жидкую фазу мембраны [67]. Сверхактивация внесинаптических NMDA-рецепторов преимущественно вовлекается в эксайтотоксичность [12]. В липидных рафтах располагается транспортер возбуждающих аминокислот (EAAT1-4), и удаление холестерина снижает опосредуемый транспортером  $Na^{+}$ -зависимый захват глутамата в глиальные и нейрональные клетки [68], способствуя эксайтотоксичности. Интересно, что активация NMDA-рецепторов вызывает быстрое снижение внутриклеточного содержания холестерина (возможно, рециклирующего эндосом), что ведет к активации Cdc42- и Rab11-зависимого перемещения AMPA-рецепторов в постсинаптическую мембрану. Это способствует возникновению долговременной синаптической потенциации [69].

### ХОЛЕСТЕРИН И НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

В последнее время увеличивается количество данных, указывающих на связь дефектов в метаболизме холестерина и синаптической передаче с развитием нейродегенеративных заболеваний [2, 11, 12]. На значимость холестерина для мозга указывает большое число редких наследственных заболеваний с выраженными неврологическими симптомами, вызванных мутациями генов, прямо или косвенно вовлеченных в метаболизм холестерина. Мы проанализировали

данные об изменении обмена холестерина при ряде патологий ЦНС, непосредственно связанных с мутациями в генах, продукты которых вовлечены в биосинтез холестерина (синдром Смита–Лемли–Опица), его внутриклеточный трафик (болезнь Нимана–Пика типа С) и регуляцию синтеза (болезнь Гентингтона).

### Синдром Смита–Лемли–Опица

Причиной некоторых заболеваний, вызывающих нейродегенерацию и пороки развития, являются нарушения путей биосинтеза холестерина. При ластеролозах обнаруживается дефект в  $3\beta$ -гидроксистероид-5-десатуразе, при десмостеролозах – в  $3\beta$ -гидроксистерол-24-редуктазе, при церебротендинальном ксантоматозе – в холестерин-27-гидроксилазе. Синдром Смита–Лемли–Опица – наиболее распространенное аутосомно-рецессивное заболевание этого класса (1/20000 живорожденных), вызывается мутациями в гене *dhcr7*, кодирующем 7-дегидрохолестеролредуктазу [70]. В наиболее тяжелых случаях мутации ведут к гибели плода или младенца. Dhcr7 катализирует последний этап пути Kandutsch–Russell синтеза холестерина. В результате мутаций активность

Dhcr7 снижается, что ведет к увеличению содержания 7-дегидрохолестерина и недостатку холестерина в клетках, плазме и мозге (рис. 4). При синдроме Смита–Лемли–Опица концентрация 24-ГХ в плазме снижается, а 27-ГХ увеличивается [71]. При этом заболевании наблюдаются множественные аномалии развития мозга и органов, снижение умственных способностей, эмоциональные расстройства и проблемы со сном. У пациентов с сильно выраженными симптомами концентрация холестерина в плазме может составлять 2% от нормальных значений. При умеренных симптомах уровень холестерина в плазме может быть нормальным, однако это не может компенсировать дефицит функций мозга, что указывает на участие холестерина мозга в генезе неврологических симптомов [70]. С другой стороны, эти симптомы могут быть обусловлены накоплением субстрата Dhcr7 – 7,8-дегидродесмостерола и его окисленных метаболитов [72]. Некоторые тератогенные эффекты при синдроме Смита–Лемли–Опица вызваны, вероятно, дефектами в SHH-сигнализации, поскольку для активности белка SHH (морфогенный фактор, Sonic Hedgehog) требуется ковалентное присоединение холестерина [70].

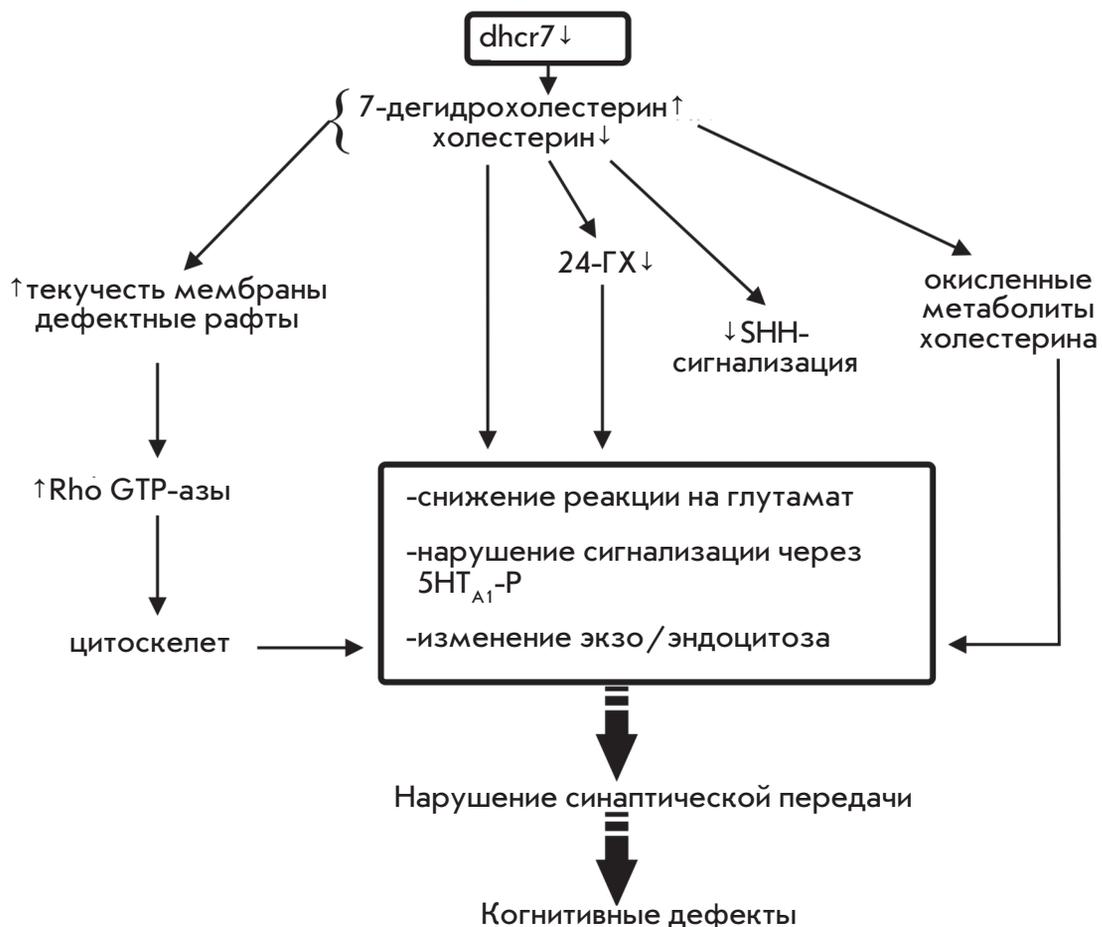


Рис. 4. Нарушение синтеза холестерина при синдроме Смита–Лемли–Опица. Связь с синаптической дисфункцией. Подробные объяснения в тексте

При синдроме Смита–Лемли–Опица холестерин в мембранах замещается 7-дегидрохолестерином, а поскольку его свойства сходны со свойствами холестерина, в функционировании мембран наблюдаются тонкие изменения. В частности, уменьшаются жесткость мембраны и способность стабилизировать изгибы, что важно при экзо- и эндоцитозе. Также формируются дефектные рафты с нарушенным белковым составом [73]. Снижение уровня холестерина может влиять на сигнализацию, зависящую от многих рецепторов. У мутантных мышей с синдромом Смита–Лемли–Опица нарушен ответ NMDA-рецепторов на глутамат [74]. 7-Дегидрохолестерин окисляется активными формами кислорода с формированием десятков вариантов оксистеролов, некоторые из них проявляют активность в субмикромольных концентрациях [72] и потенциально могут воздействовать на экзо- и эндоцитоз [55]. 7-Дегидрохолестерин может нарушать связывание с лигандом серотониновых рецепторов 1A [75]. При синдроме Смита–Лемли–Опица в аксонах и дендритах нейронов гиппокампа, возможно, в результате изменения состояния липидных рафтов повышена активность малых GTP-аз семейства Rho [76], вовлеченных в управление динамикой актинового цитоскелета. При синдроме Смита–Лемли–Опица происходит ги-

перфосфорилирование кофилина-1, который утрачивает способность разрушать актиновые филаменты. Стабилизация цитоскелета может опосредованно воздействовать на процессы экзо- и эндоцитоза, трафик синаптических везикул/рецепторов. Все это может приводить к нарушению высвобождения различных нейромедиаторов (серотонина, дофамина) и развитию неврологических симптомов [77].

### Болезнь Нимана–Пика типа С

Прямая связь между нарушением метаболизма холестерина в мозге и нейродегенерацией ясно показана при болезни Нимана–Пика типа С, редкой аутосомно-рецессивной патологии (1/150000 новорожденных), при которой наблюдается прогрессирующая гибель нейронов и преждевременная смерть, часто развивается гепатоспленомегалия и болезни легких. При болезни Нимана–Пика типа С в головном мозге наблюдается массивная потеря клеток Пуркинье мозжечка, что согласуется с нарушением двигательного контроля [2]. Причиной заболевания являются мутации в генах *NPC1* (95% случаев) или *NPC2* (5%), которые приводят к дефициту соответствующих белков (рис. 5). При недостатке NPC1 или NPC2 в нейронах и глии холестерин и в меньшей степени другие липиды (в частности, гликолипи-

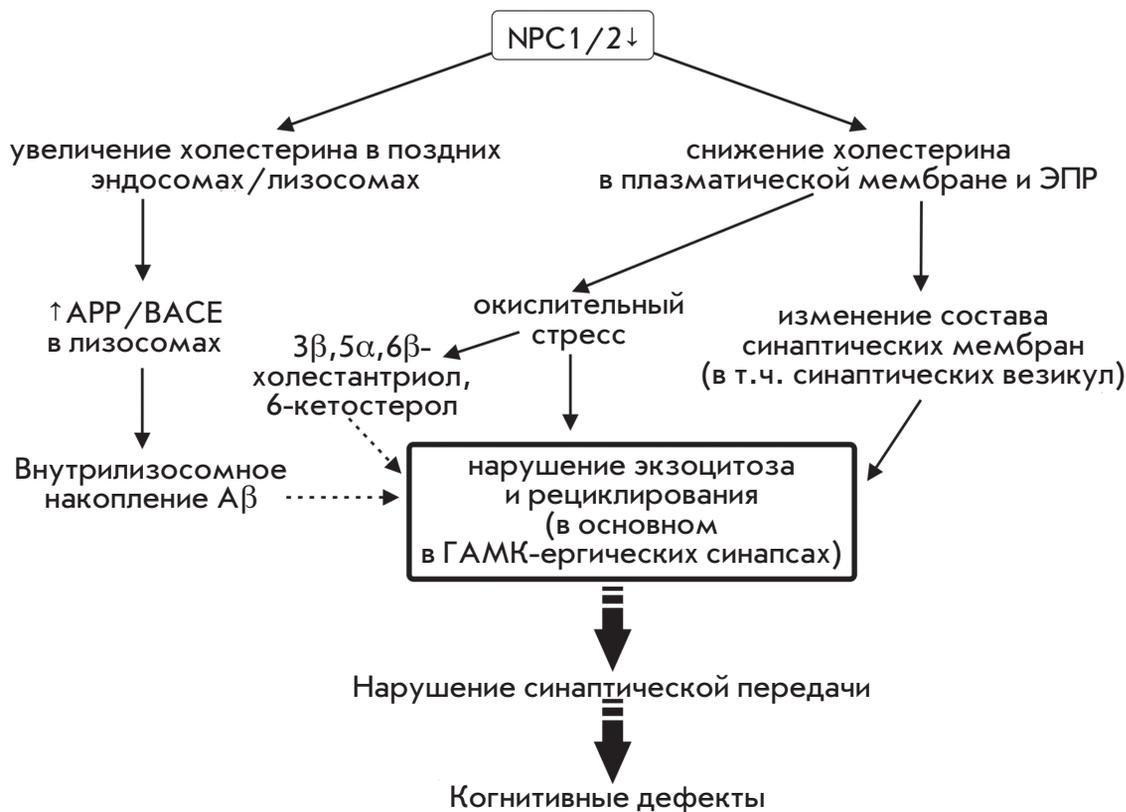


Рис. 5. Изменение обмена холестерина при болезни Нимана–Пика типа С. Влияние на синаптическую передачу. Подробные объяснения в тексте

ды) «запираются» в поздних эндосомах/лизосомах и не поступают в плазматическую мембрану и ЭПР [16]. Интересно, что при дефиците NPC1 содержание холестерина в дистальных частях аксонов резко уменьшается и повышается в телах нейронов. Возможно, неврологические дефекты при болезни Нимана–Пика типа С обусловлены снижением холестерина в аксонах, особенно в нервных окончаниях. Согласуется с этой идеей изменение состава и морфологии синаптических везикул, рециклирующих эндосом в нервном окончании при дефиците NPC1 [18]. При болезни Нимана–Пика типа С наблюдается усиленное образование ряда оксистеролов,  $3\beta,5\alpha,6\beta$ -холестантриола и 6-кетостерола в мозге, вызванное окислительным стрессом [2].

При болезни Нимана–Пика типа С дегенерация сомы нейронов является конечным звеном патологического каскада. Сначала же развивается дегенерация пресинаптических нервных терминалей, здесь же в рециклирующих эндосомах локализуется поврежденный белок NPC1 [18]. По-видимому, нейродегенерация может начинаться из нервных окончаний. На ранних стадиях заболевания (до нейродегенерации и исчезновения синапсов) наблюдаются пресинаптические нарушения: угнетаются процессы вызванного экзоцитоза и доставки синаптических везикул в сайты экзоцитоза [78]. Причем нарушения экзоцитоза и замедление кругооборота синаптических везикул сильнее выражены в ГАМК-ергических нервных окончаниях, что может рождать дисбаланс возбуждающей/тормозной нейротрансмиссии [79]. Возможно, альтерации синаптической передачи являются причинами ряда симптомов болезни Нимана–Пика типа С, таких, как атаксия, катаплексия, нарушение рефлексов. Схожие изменения в экзоцитозе синаптических везикул наблюдаются при удалении мембранного холестерина высокими дозами метил- $\beta$ -циклодекстрина (МЦД) [78]. Обнаружение NPC1 в рециклирующих эндосомах в нервных окончаниях указывает на возможность участия NPC1 в медленном пути рециклирования везикул, важном для сохранения численности синаптических везикул в течение длительной синаптической активности [18].

На сегодняшний день не существует эффективных методов лечения болезни Нимана–Пика типа С. Однако последние исследования дали повод надеяться на появление адекватной терапии. Однократное подкожное введение холестеринсвязывающего компонента (МЦД) животным с делецией генов *NPC1* замедляло развитие нейродегенерации и вдвое увеличивало продолжительность жизни [80]. Хотя МЦД не может эффективно проникать через ГЭБ, малые его количества все же попадают в мозг. Высокие дозы

МЦД (5–10 мМ), обычно используемые для удаления существенного количества мембранного холестерина, токсичны для нейронов и блокируют синаптическую передачу [3]. Низкие же дозы МЦД (например, 0.1 мМ) слабо влияют на мембранный холестерин [62] и могут подвергаться эндоцитозу, попадая в нейроны. Захваченные молекулы МЦД, возможно, могут освобождать «запертый» в поздних эндосомах/лизосомах холестерин и направлять его в ЭПР и плазматическую мембрану. Инъекции 2-гидроксипролил- $\beta$ -циклодекстрина в спинномозговую жидкость снижают накопление холестерина в эндо/лизосомах и улучшают выживаемость клеток Пуркиньи [16]. Недавно были разработаны соединения (полиротаксаны), которые могут расщепляться в лизосомах с освобождением  $\beta$ -циклодекстринов. Они проявляют высокую эффективность, препятствуя накоплению холестерина в лизосомах при болезни Нимана–Пика типа С [81]. Следует заметить, что те же формы циклодекстринов обладают нейротропной активностью в клеточных и мышечных моделях болезни Альцгеймера [82].

При болезни Нимана–Пика типа С происходит внутриклеточное накопление амилоидного пептида  $\beta$  (в нагруженных холестерином лизосомах) и фибриллярных клубков из гиперфосфорилированного белка tau. В спинномозговой жидкости при болезни Нимана–Пика типа С увеличивается концентрация амилоидных пептидов  $\beta$  из 38, 40 и 42 аминокислотных остатков. Однако амилоидные бляшки не образуются, что, вероятно, связано с ранней летальностью при этом заболевании [83]. Диффузные амилоидные бляшки могут появиться при болезни Нимана–Пика типа С у носителей аллеля ApoE4, у которых снижен клиренс амилоидного пептида  $\beta$ . Носительство аллеля ApoE4 коррелирует с более тяжелым течением и ранним началом неврологических проявлений болезни Нимана–Пика типа С [84].

### Болезнь Гентингтона

Это аутосомно-доминантное нейродегенеративное заболевание характеризуется когнитивными и моторными нарушениями. Болезнь Гентингтона возникает в результате увеличения количества остатков глутамина (более 36 копий, полиглутаминовая экспансия) в белке гентингтин. Токсичному воздействию данного белка подвержены нейроны стриатума и коры [85]. Биосинтез холестерина снижен в мозге при болезни Гентингтона [10]. Мутантный гентингтин снижает активность фактора транскрипции SREBP, что подавляет экспрессию его генов-мишеней и ведет к уменьшению образования холестерина в нейронах коры и стриатума (рис. 6). Уровень холестерина снижается сначала в си-

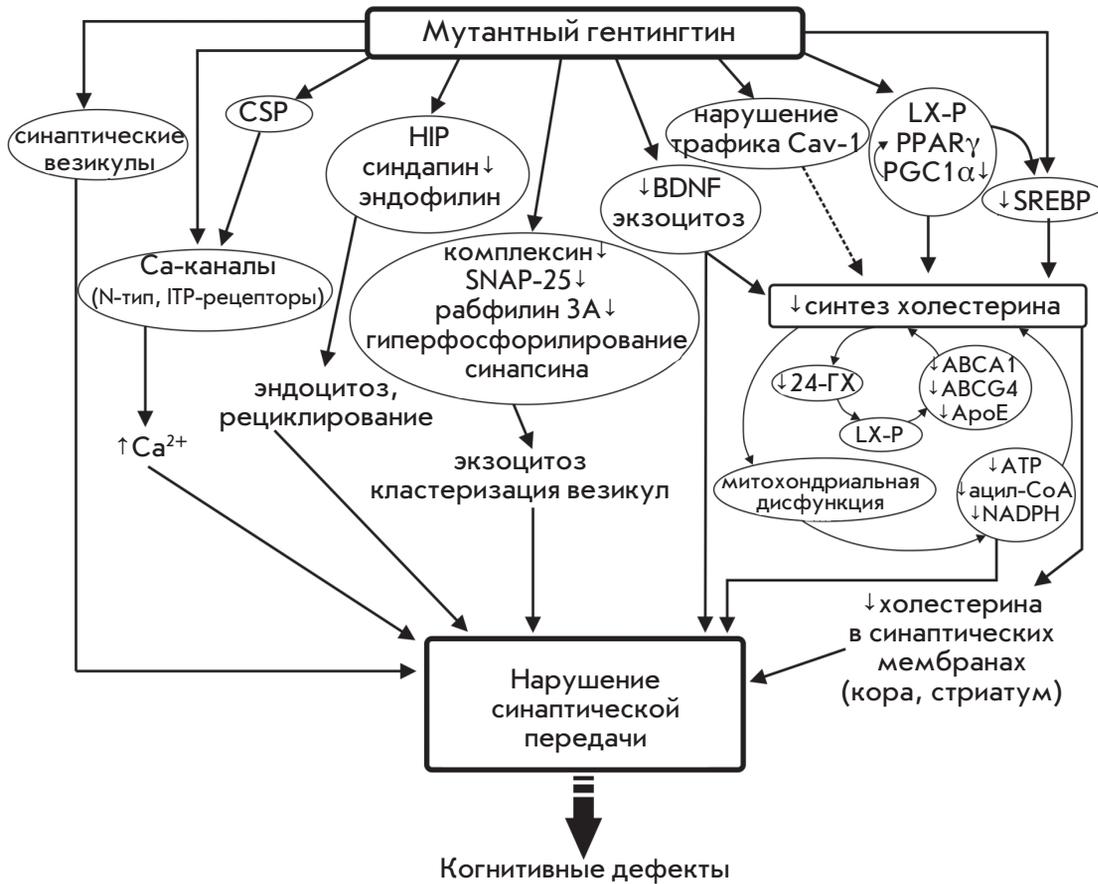


Рис. 6. Влияние мутантного белка гентинггина на синаптическую передачу и обмен холестерина. Подробные объяснения в тексте

наптосомальных мембранах, а затем в миелине. Добавление экзогенного холестерина (до 15 мкМ) к нейронам стриатума, экспрессирующим мутантный гентинггин, увеличивает их выживаемость [86]. Чем больше длина полиглутаминового участка гентинггина, тем сильнее подавлен синтез холестерина и тяжелее протекает заболевание [34]. С возрастом различие в содержании холестерина у здоровых животных и животных с болезнью Гентингтона увеличивается [86]. При болезни Гентингтона наблюдается уменьшение на 50% синтеза холестерина в фибробластах, снижение общего содержания холестерина в плазме. Причем содержание холестерина в плазме значительно уменьшено уже на бессимптомной стадии [87]. Наоборот, концентрация 24-ГХ в начале болезни Гентингтона увеличивается, а на более поздних стадиях снижается за счет прогрессирующего снижения метаболизма холестерина при атрофии стриатума [10]. Начальный всплеск 24-ГХ может отражать последнюю «попытку» организма компенсировать недостаток обмена холестерина. Дальнейшее снижение 24-ГХ в мозге может способствовать уменьшению синтеза холестерина за счет ослабления активации LX-рецепторов и экспрессии

зависимых от LX-рецептора транскриптов (ABCA1, ABCG4, ApoE). В итоге астроциты с мутантным гентинггином синтезируют и секретируют меньше ApoE, а выделяемые ApoE-частицы меньше по размеру и содержат меньше липидов, поэтому менее эффективно доставляют холестерин от астроцитов к нейронам и менее эффективно удаляют избыток холестерина [86]. Агонисты LX-рецепторов могут частично подавлять симптомы болезни Гентингтона [10]. В условиях сниженной продукции холестерина в мембранах и лизосомах/эндосомах могут образовываться скопления холестерина и его эфиров за счет снижения интенсивности удаления холестерина в составе ApoE-частиц и 24-ГХ. Появление скоплений холестерина может быть связано с нарушением транспорта кавеолина-1 под влиянием мутантного гентинггина [88]. BDNF, освобождаемый из нервных окончаний кортикальных нейронов в стриатуме, вовлечен не только в синаптическую пластичность и контроль выживаемости, но и стимулирует синтез холестерина в постсинаптических нейронах. Мутантный гентинггин угнетает продукцию холестерина, воздействуя на транспорт и освобождение BDNF [10].

Белок гентингтин дикого типа может связываться с рядом ядерных рецепторов, вовлеченных в липидный метаболизм, например, LX-рецептор, PPAR $\gamma$  (peroxisome-proliferator-activated receptor gamma), рецептор витамина D [10]. Сверхэкспрессия гентингина активирует LX-рецептор, тогда как при его отсутствии наблюдается ингибирование транскрипции, опосредуемой LX-рецептором. Возможно, мутантный гентингтин в меньшей степени может стимулировать LX-рецептор и экспрессию его генов-мишеней, в том числе SREBP. В олигодендрocyтах мутантный гентингтин подавляет эффект коактиватора 1 PPAR $\gamma$  (PGC1 $\alpha$ ) на экспрессию ферментов синтеза и метаболизма холестерина, белков миелина, нарушая образование миелиновой оболочки [89]. Еще на бессимптомной стадии при болезни Гентингтона снижена экспрессия PGC1 $\alpha$  в средних шипиковых нейронах стриатума. Это может быть одной из причин выраженной митохондриальной дисфункции, так как PGC1 $\alpha$  вовлечен в биогенез митохондрий и окислительный метаболизм, регулирует экспрессию компонентов электронно-транспортной цепи [90]. Нарушение функционирования митохондрий может вести к недостатку АТФ, NADPH и субстратов, необходимых для синтеза холестерина. При болезни Гентингтона значительно возрастает текучесть митохондриальной мембраны, что может быть опосредовано нарушением синтеза холестерина. Холестерин-подобная молекула, олесоксим, способная проникать в клетку и накапливаться в мембране митохондрий, проявляет терапевтическую эффективность при коррекции митохондриальной дисфункции в моделях амиотрофического бокового склероза, периферической нейропатии и болезни Гентингтона. В последнем случае олесоксим понижает текучесть

мембран митохондрий, а при хроническом применении повышает в них содержание холестерина [91].

Перед клинической манифестацией болезни Гентингтона нарушаются процессы экзо- и эндоцитоза синаптических везикул (рис. 6). Сам гентингтин концентрируется в пресинапсе и связывается с синаптическими везикулами. У мышей с мутантным гентингином наблюдается аномальное фосфорилирование синапсина I и прогрессирующее снижение концентрации комплекса II, SNAP-25, рабфилина 3A в нервных окончаниях специфических участков коры [92]. В итоге угнетается экзоцитоз и уменьшается размер пула синаптических везикул. Уровень цитоплазматического Ca<sup>2+</sup> в терминалях повышается, возможно, в результате ослабления ингибиторного влияния со стороны CSP (cysteine-string protein) или непосредственно гентингина на кальциевые каналы N-типа или ITP-рецепторы соответственно [93]. Некоторые белки, участвующие в эндоцитозе, специфично связываются с гентингином, – это HIP1 (huntingtin interacting protein 1), HIP1R, синдапин I, эндофилин. При болезни Гентингтона из пресинаптических регионов пропадает эндоцитозный каркасный белок – синдапин, а HIP1 перестает должным образом функционировать, что приводит к сильному нарушению эндоцитоза. Кроме того, при болезни Гентингтона страдает связанная с эндосомами и зависящая от Rab11 рециклизация синаптических везикул, что ведет к появлению аномально маленьких синаптических везикул и угнетению синаптической передачи [94]. ●

*Работа поддержана грантом РФФИ (№ 14-04-00094), а также частично другими грантами РФФИ (№ 16-34-00127) и РНФ (№ 14-15-00847).*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Dietschy J.M. // Biol. Chem. 2009. V. 390. № 4. P. 287–293.
- Vance J.E. // Disease Models Mechanisms. 2012. V. 5. P. 746–755.
- Петров А.М., Зефирова А.Л. // Успехи физиологических наук. 2013. Т. 44. № 1. С. 17–38.
- Saeed A.A., Genové G., Li T., Lütjohann D., Olin M., Mast N., Pikuleva I.A., Crick P., Wang Y., Griffiths W. // J. Biol. Chem. 2014. V. 289. № 34. P. 23712–23722.
- Elahy M., Jackaman C., Mamo J.C.L., Lam V., Dhaliwal S.S., Giles C., Nelson D., Takechi R. // Immunity Ageing. 2015. V. 12. A. 2.
- Sagare A.P., Bell R.D., Zhao Z., Ma Q., Winkler E.A., Ramathan A., Zlokovic B.V. // Nat. Commun. 2013. V. 4. A. 2932.
- Russell D.W., Halford R.W., Ramirez D.M., Shah R., Kotti T. // Annu. Rev. Biochem. 2009. V. 78. P. 1017–1040.
- Saher G., Brügger B., Lappe-Siefke C., Möbius W., Tozawa R., Wehr M.C., Wieland F., Ishibashi S., Nave K.A. // Nat. Neurosci. 2005. V. 8. № 4. P. 468–475.
- Numakawa T., Suzuki S., Kumamaru E., Adachi N., Richards M., Kunugi H. // Histol. Histopathol. 2010. V. 25. № 2. P. 237–258.
- Leoni V., Caccia C. // Biochim. Biophys. Acta. 2015. pii: S1388-1981(15)00003-7.
- Anchisi L., Dessì S., Pani A., Mandas A. // Front. Physiol. 2013. V. 3. P. 1–12.
- Martin M.G., Ahmed T., Korovaichuk A., Venero C., Menchón S.A., Salas I., Munck S., Herreras O., Balschun D., Dotti C.G. // EMBO Mol. Med. 2014. V. 6. № 7. P. 902–917.
- Suzuki R., Ferris H.A., Chee M.J., Maratos-Flier E., Kahn C.R. // PLoS Biol. 2013. V. 11. № 4. P. e1001532.
- Camargo N., Brouwers J.F., Loos M., Gutmann D.H., Smit A.B., Verheijen M.H. // FASEB J. 2012. V. 26. № 10. P. 4302–4315.
- Verheijen M.H., Camargo N., Verdier V., Nadra K., de Preux Charles A.S., Médard J.J., Luoma A., Crowther M., Inouye H., Shimano H. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2009. V. 106. № 50. P. 21383–21388.

16. Peake K.B., Vance J.E. // *J. Biol. Chem.* 2012. V. 287. P. 9290–9298.
17. Bryleva E.Y., Rogers M.A., Chang C.C., Buen F., Harris B.T., Rousselet E., Seidah N.G., Oddo S., LaFerla F.M., Spencer T.A., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 3081–3086.
18. Karten B., Campenot R.B., Vance D.E., Vance J.E. // *J. Lipid Res.* 2006. V. 47. P. 504–514.
19. Bu G. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2009. V. 10. № 5. P. 333–344.
20. Hayashi H. // *Biol. Pharm. Bull.* 2011. V. 34. № 4. P. 453–461.
21. Lane-Donovan C., Philips G.T., Herz J. // *Neuron.* 2014. V. 83. № 4. P. 771–787.
22. Vaughan A.M., Oram J.F. // *J. Lipid Res.* 2006. V. 47. № 11. P. 2433–2443.
23. Karasinska J.M., de Haan W., Franciosi S., Ruddle P., Fan J., Kruijck J.K., Stukas S., Lütjohann D., Gutmann D.H., Wellington C.L. // *Neurobiol. Dis.* 2013. V. 54. P. 445–455.
24. Rushworth J.V., Griffiths H.H., Watt N.T., Hooper N.M. // *J. Biol. Chem.* 2013. V. 288. № 13. P. 8935–8951.
25. Liu Q., Trotter J., Zhang J., Peters M.M., Cheng H., Bao J., Han X., Weeber E.J., Bu G. // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. № 50. P. 17068–17078.
26. Rensen P.C., Jong M.C., van Vark L.C., van der Boom H., Hendriks W.L., van Berkel T.J., Biessen E.A., Havekes L.M. // *J. Biol. Chem.* 2000. V. 275. № 12. P. 8564–8571.
27. Vance J.E., Karten B. // *J. Lipid Res.* 2014. V. 55. № 8. P. 1609–1621.
28. Ignatius M.J., Gebicke-Härter P.J., Skene J.H., Schilling J.W., Weisgraber K.H., Mahley R.W., Shooter E.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1986. V. 83. P. 1125–1129.
29. Gosselet F., Saint-Pol J., Fenart L. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2014. V. 446. № 3. P. 687–691.
30. Hudry E., Van Dam D., Kulik W., De Deyn P.P., Stet F.S., Ahouansou O., Benraiss A., Delacourte A., Bougnères P., Aubourg P. // *Mol. Ther.* 2010. V. 18. № 1. P. 44–53.
31. Sodero A.O., Vriens J., Ghosh D., Stegner D., Brachet A., Pallotto M., Sassoè-Pognetto M., Brouwers J.F., Helms J.B., Nieswandt B. // *EMBO J.* 2012. V. 31. № 7. P. 1764–1773.
32. Sodero A.O., Weissmann C., Ledesma M.D., Dotti C.G. // *Neurobiol. Aging.* 2011. V. 32. № 6. P. 1043–1053.
33. Marwarha G., Ghribi O. // *Exp. Gerontol.* 2014. pii: S0531-5565(14)00270-8.
34. Brown A.J., Jessup W. // *Mol. Aspects Med.* 2009. V. 30. № 3. P. 111–122.
35. Heverin M., Bogdanovic N., Lütjohann D., Bayer T., Pikuleva I., Bretillon L., Diczfalussy U., Winblad B., Björkhem I. // *J. Lipid Res.* 2004. V. 45. № 1. P. 186–193.
36. Lathe R., Sapronova A., Kotelevtsev Y. // *BMC Geriatrics.* 2014. V. 14. A. 36
37. Zefirov A.L., Petrov A.M. // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2012. V. 42. № 2. P. 144–152.
38. Jennemann R., Sandhoff R., Wang S., Kiss E., Gretz N., Zuliani C., Martin-Villalba A., Jäger R., Schorle H., Kenzelmann M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. V. 102. № 35. P. 12459–12464.
39. Suzuki T., Zhang J., Miyazawa S., Liu Q., Farzan M.R., Yao W.D. // *J. Neurochem.* 2011. V. 119. № 1. P. 64–77.
40. Stary C.M., Tsutsumi Y.M., Patel P.M., Head B.P., Patel H.H., Roth D.M. // *Front. Physiol.* 2012. V. 3. P. 393.
41. Head B.P., Peart J.N., Panneerselvam M., Yokoyama T., Pearn M.L., Niesman I.R., Bonds J.A., Schilling J.M., Miyano-hara A., Headrick J. // *PLoS One.* 2010. V. 5. № 12. P. e15697.
42. Fantini J., Yahi N. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013. V. 991. P. 15–26.
43. Uversky V.N. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 2015. V. 855. P. 33–66.
44. Rushworth J.V., Hooper N.M. // *Int. J. Alzheimers. Dis.* 2011. P. 603052.
45. Petrov A.M., Kudryashova K.E., Odnoshivkina Yu.G., Zefirov A.L. // *Neurochem. J.* 2011. V. 5. № 1. P. 13–19.
46. Matsuzaki K. // *Int. J. Alzheimers. Dis.* 2011. V. 2011. P. 956104.
47. Martins I.C., Kuperstein I., Wilkinson H., Maes E., Vanbrabant M., Jonckheere W., van Gelder P., Hartmann D., D’Hooge R., De Strooper B. // *EMBO J.* 2008. V. 27. № 1. P. 224–233.
48. Tong J., Borbat P.P., Freed J.H., Shin Y.K. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. № 13. P. 5141–5146.
49. Rohrbough J., Broadie K. // *Nat. Rev. Neurosci.* 2005. V. 6. № 2. P. 139–150.
50. Jia J.Y., Lamer S., Schümann M., Schmidt M.R., Krause E., Haucke V. // *Mol. Cell Proteomics.* 2006. V. 5. № 11. P. 2060–2071.
51. Sieber J.J., Willig K.I., Heintzmann R., Hell S.W., Lang T. // *Biophys. J.* 2006. V. 90. № 8. P. 2843–2851.
52. Taverna E., Saba E., Linetti A., Longhi R., Jeromin A., Righi M., Clementi F., Rosa P. // *J. Neurochem.* 2007. V. 100. № 3. P. 664–677.
53. Kasimov M.R., Giniatullin A.R., Zefirov A.L., Petrov A.M. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2015. V. 1851. № 5. P. 674–685.
54. Petrov A.M., Kasimov M.R., Giniatullin A.R., Tarakanova O.I., Zefirov A.L. // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2010. V. 40. № 8. P. 894–901.
55. Petrov A.M., Kasimov M.R., Giniatullin A.R., Zefirov A.L. // *Neurosci. Behav. Physiol.* 2014. V. 44. № 9. P. 1020–1030.
56. Zamir O., Charlton M.P. // *J. Physiol.* 2006. V. 571. № 1. P. 83–99.
57. Tarakanova O.I., Petrov A.M., Zefirov A.L. // *Doclady Biol. Sci.* 2011. V. 438. P. 138–140.
58. Petrov A.M., Yakovleva A.A., Zefirov A.L. // *J. Physiol.* 2014. V. 592. № 22. P. 4995–5009.
59. Smith A.J., Sugita S., Charlton M.P. // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. № 17. P. 6116–6121.
60. Petrov A.M., Zakyrjanova G.F., Yakovleva A.A., Zefirov A.L. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015. V. 456. № 1. P. 145–150.
61. Tarasenko A.S., Sivko R.V., Krisanova N.V., Himmelreich N.H., Borisova T.A. // *J. Mol. Neurosci.* 2010. V. 41. № 3. P. 358–367.
62. Petrov A.M., Naumenko N.V., Uzinskaya K.V., Giniatullin A.R., Urazaev A.K., Zefirov A.L. // *Neuroscience.* 2011. V. 186. P. 1–12.
63. Hering H., Lin C.C., Sheng M. // *J. Neurosci.* 2003. V. 23. № 8. P. 3262–3271.
64. Hou Q., Huang Y., Amato S., Snyder S.H., Haganir R.L., Man H.Y. // *Mol. Cell Neurosci.* 2008. V. 38. № 2. P. 213–223.
65. Korinek M., Vyklicky V., Borovska J., Lichnerova K., Kania-kova M., Krausova B., Krusek J., Balik A., Smejkalova T., Horak M. // *J. Physiol.* 2015. V. 593. № 10. P. 2279–2293.
66. Paul S.M., Doherty J.J., Robichaud A.J., Belfort G.M., Chow B.Y., Hammond R.S., Crawford D.C., Linsenbardt A.J., Shu H.J., Izumi Y. // *J. Neurosci.* 2013. V. 33. № 44. P. 17290–17300.
67. Head B.P., Patel H.H., Tsutsumi Y.M., Hu Y., Mejia T., Mora R.C., Insel P.A., Roth D.M., Drummond J.C., Patel P.M. // *FASEB J.* 2008. V. 22. № 3. P. 828–840.
68. Butchbach M.E., Tian G., Guo H., Lin C.L. // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 33. P. 34388–34396.
69. Brachet A., Norwood S., Brouwers J.F., Palomer E., Helms J.B., Dotti C.G., Esteban J.A. // *J. Cell Biol.* 2015. V. 208. № 6. P. 791–806.
70. Nowaczyk M.J., Irons M.B. // *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.* 2012. V. 160C. № 4. P. 250–262.
71. Björkhem I., Starck L., Andersson U., Lütjohann D., von Bahr S., Pikuleva I., Babiker A., Diczfalussy U. // *J. Lipid Res.* 2001. V. 42. № 3. P. 366–371.

72. Korade Z., Xu L., Shelton R., Porter N.A. // *J. Lipid Res.* 2010. V. 51. № 11. P. 3259–3269.
73. Staneva G., Chachaty C., Wolf C., Quinn P.J. // *J. Lipid Res.* 2010. V. 51. № 7. P. 1810–1822.
74. Wassif C.A., Zhu P., Kratz L., Krakowiak P.A., Battaile K.P., Weight F.F., Grinberg A., Steiner R.D., Nwokoro N.A., Kelley R.I. // *Hum. Mol. Genet.* 2001. V. 10. № 6. P. 555–564.
75. Singh P., Paila Y.D., Chattopadhyay A. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. V. 358. № 2. P. 495–499.
76. Jiang X.S., Wassif C.A., Backlund P.S., Song L., Holtzclaw L.A., Li Z., Yergey A.L., Porter F.D. // *Hum. Mol. Genet.* 2010. V. 19. № 7. P. 1347–1357.
77. Sparks S.E., Wassif C.A., Goodwin H., Conley S.K., Lanham D.C., Kratz L.E., Hyland K., Gropman A., Tierney E., Porter F.D. // *J. Inherit. Metab. Dis.* 2014. V. 37. № 3. P. 415–420.
78. Hawes C.M., Wiemer H., Krueger S.R., Karten B. // *J. Neurochem.* 2010. V. 114. P. 311–322.
79. Xu S., Zhou S., Xia D., Xia J., Chen G., Duan S., Luo J. // *Neuroscience.* 2010. V. 167. P. 608–620.
80. Liu B., Turley S.D., Burns D.K., Miller A.M., Repa J.J., Dietschy J.M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009. V. 106. P. 2377–2382.
81. Tamura A., Yui N. // *J. Biol. Chem.* 2015. V. 290. № 15. P. 9442–9454.
82. Malnar M., Hecimovic S., Mattsson N., Zetterberg H. // *Neurobiol. Dis.* 2014. V. 72 Pt A. P. 37–47.
83. Yamazaki T., Chang T.Y., Haass C., Ihara Y. // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 6. P. 4454–4460.
84. Fu R., Yanjanin N.M., Elrick M.J., Ware C., Lieberman A.P., Porter F.D. // *Am. J. Med. Genet. A.* 2012. V. 158A. № 11. P. 2775–2780.
85. Margulis B.A., Vigont V., Lazarev V.F., Kaznacheyeva E.V., Guzhova I.V. // *FEBS Lett.* 2013. V. 587. № 13. P. 1997–2007.
86. Valenza M., Leoni V., Karasinska J.M., Petricca L., Fan J., Carroll J., Pouladi M.A., Fossale E., Nguyen H.P., Riess O. // *J. Neurosci.* 2010. V. 30. P. 10844–10850.
87. Wang R., Ross C.A., Cai H., Cong W.N., Daimon C.M., Carlson O.D., Egan J.M., Siddiqui S., Maudsley S., Martin B. // *Front. Physiol.* 2014. V. 5. P. 231.
88. Trushina E., Canaria C.A., Lee D.Y., McMurray C.T. // *Hum. Mol. Genet.* 2014. V. 23. № 1. P. 129–144.
89. Xiang Z., Valenza M., Cui L., Leoni V., Jeong H.K., Brilli E., Zhang J., Peng Q., Duan W., Reeves S.A. // *J. Neurosci.* 2011. V. 31. № 26. P. 9544–9553.
90. Tsunemi T., La Spada A.R. // *Prog. Neurobiol.* 2012. V. 97. № 2. P. 142–151.
91. Eckmann J., Clemens L.E., Eckert S.H., Hagl S., Yu-Taeger L., Bordet T., Pruss R.M., Muller W.E., Leuner K., Nguyen H.P. // *Mol. Neurobiol.* 2014. V. 50. № 1. P. 107–118.
92. Smith R., Klein P., Koc-Schmitz Y., Waldvogel H.J., Faull R.L., Brundin P., Plomann M., Li J.Y. // *J. Neurochem.* 2007. V. 103. № 1. P. 115–123.
93. Bezprozvanny I.B. // *Acta Naturae.* 2010. V. 2. № 1(4). P. 72–80.
94. Steinert J.R., Campesan S., Richards P., Kyriacou C.P., Forsythe I.D., Giorgini F. // *Hum. Mol. Genet.* 2012. V. 21. № 13. P. 2912–2922.