

И. А. Верес

АПОПТОЗ-ЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОСПАЛЕНИЯ

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Воспалительные заболевания в настоящее время являются одним из распространенных заболеваний женской половой сферы, наиболее часто встречаются у женщин с бесплодием и в послеродовом периоде. Несмотря на большое количество методов диагностики

□ В помощь практикующему врачу

воспалительных заболеваний, частота их не имеет тенденции к снижению. В решении этих вопросов особое значение придается изучению возникновения данной патологии с позиции выявления возникающих процессов пролиферации и апоптоза.

В работе представлены современные данные о клеточных и молекулярных механизмах апоптоза. В статье систематизирована информация по диагностике маркеров апоптоза при воспалительных заболеваниях на основе всестороннего анализа научной литературы за последние 15 лет. Представлены современные сведения о роли апоптоза в развитии воспалительных заболеваний органов малого таза.

Ключевые слова: апоптоз, рецепторы, регуляторы апоптоза, воспаление.

I. A. Veres

APOPTOSIS-DEPENDENT MECHANISMS OF INFLAMMATION

Inflammatory diseases are currently one of the most common diseases of the female genital area, most common in women with infertility and in the postpartum period. Despite a large number of methods for diagnosing inflammatory diseases, their frequency does not tend to decrease. In addressing these issues, special attention is given to the study of the emergence of this pathology in terms of identifying the emerging processes of proliferation and apoptosis.

Authors present modern data on the cellular and molecular mechanisms of apoptosis. The article systematizes information on the diagnosis of markers of apoptosis in inflammatory diseases on the basis of a comprehensive analysis of scientific literature over the past 15 years. Authors present modern information on the role of apoptosis in the development of inflammatory diseases of the pelvic organs.

Keywords: apoptosis, receptors, apoptosis regulators, inflammation.

В настоящее время большую актуальность имеет проблема изучения возможных путей коррекции апоптотического процесса при различных заболеваниях, в том числе и воспалительного генеза. Апоптоз – это регулируемый процесс клеточной гибели, происходящий в нормальных и патологически измененных тканях. Он имеет большое значение для поддержания нормального клеточного гомеостаза и постоянно происходит как в старых, так и в поврежденных клетках [16, 19].

В основе воспалительной реакции тканей при инфекционно-воспалительных процессах лежит сложный каскад взаимодействия про- и противовоспалительных цитокинов, сосудистого эндотелия, форменных элементов крови и клеток пораженных тканей. При этом активируются так называемые «гены гибели клеток», ответственные за развитие апоптоза, или запрограммированной смерти клеток с развитием дистрофических, атрофических и некротических процессов в тканях и органах.

Впервые роль апоптоза в физиологических и патологических процессах была установлена тремя исследователями Сидни Бреннером (S. Brenner), Джоном Салстоном (J. Sulston) и Робертом Хорвицом (R. Horvitz), которым в 2002 году была присуждена нобелевская премия за цикл работ, посвященных проблеме запрограммированной клеточной гибели. В частности, С. Бреннер еще в 60-е годы прошлого века обнаружил гены, управляющие «жизнью и смертью» клеток органов в процессе их развития, Д. Салстон впервые обнаружил и описал

мутации в генах апоптоза, а Р. Хорвиц механизмы взаимосвязи между генами, вовлеченными в процесс апоптоза.

В 1994 Е. Farber предложил следующую классификацию апоптоза или запрограммированной клеточной гибели (ЗКГ):

1) онтогенетическая гибель клеток в ходе нормального развития или метаморфоза клеток. По такому принципу процессы апоптоза протекают в зрелых соматических клетках в течение жизни человека при образовании кератиноцитов, атрезии фолликулов яичников, слущивании эпителиальной выстилки желудка и кишечника, эндометрия, регрессии молочной железы при лактации [28];

2) физиологическая, которая протекает в ходе деструкции гиперплазированных тканей в результате эндогенных и экзогенных повреждений. Апоптоз может быть обнаружен в тканях, подвергнутых обратимому расширению, например, в гормонзависимых клетках молочной железы после оперативного лечения гормональной опухоли [32];

3) биохимическая ЗКГ в результате действия патологических агентов различного происхождения. Апоптоз может наблюдаться в процессе эмбрионального развития - нарушение апоптоза в эмбриогенезе может приводить к внутриутробной гибели плода, врожденным уродствам или различным заболеваниям, в том числе злокачественным [23].

Развитие апоптоза может протекать по внешнему или внутреннему механизму, включающему

следующие стадии: индукторную, эффекторную и деградации [6, 12, 23]. Внешний механизм ЗКГ является рецепторным, так как фаза индукции начинается с проведения внутриклеточных и внешних сигналов апоптоза. После получения сигнала к апоптозу в клетке происходит связывание лиганда с рецептором его гибели. Наиболее известные рецепторы апоптоза, принадлежащие к семейству фактора некроза опухоли (TNF), расположены на поверхности клеток: Fas (C95, APO-1, TNF-R) [12, 23, 32]. Fas антиген экспрессирован в различных органах и тканях, включая тимус, печень, яичники, сердце и легкое [1, 5]. Fas лиганд (FasL) – это мембранный белок II типа, является членом семейства TNF и преимущественно экспрессирован на поверхности активизированных Т-лимфоцитов и в некоторых тканях, включая тонкий кишечник, почки, яичко и легкое [12, 23, 32]. Во второй стадии происходит разрушение клеточных ультраструктур за счет действия литических ферментов каспаз (цистеиновых протеаз), лизосомальных и сериновых протеаз. Стадия деградации завершается гибелью клеток [5].

Под влиянием таких сигналов, как цитокины, гормоны, избыточное накопление радикалов кислорода, радиации, гипоксии происходит активация внутреннего механизма апоптоза [6, 12, 23]. Эти факторы оказывают повреждающее действие на мембрану митохондрий, что ведет к высвобождению цитохрома С, который активирует каспазу-9 и запускает процесс апоптоза. В частности, оксид азота (NO) изменяет химическую структуру цитохрома С, в результате чего происходит повреждение структуры последнего и высвобождение его из митохондрий, что в свою очередь, активирует каспазы. Таким образом, повышение продукции NO может быть триггером клеточной гибели [12].

В зависимости от сигнального пути апоптоза и вовлечения вторичных мессенджеров передачи сигналов различают несколько типов апоптоза: инициируемый свободными радикалами; Fas-индуцированный; NO-зависимый; активируемый при повреждении мембран лизозом; кислород-зависимый; гранзим В-индуцированный; обусловленный стрессом; глюкокортикоид-индуцированный; активационно-индуцированный [12, 13]. Регуляторы апоптоза (провоспалительные цитокины, андрогены, ростовой фактор, эстрогены, нейтральные аминокислоты и др.), могут оказывать тормозящее или активирующее влияние на различных уровнях программированной гибели клетки.

Морфологически апоптоз характеризуется конденсацией хроматина, втягиванием клеточной мембраны, расширением эндоплазматического ретикулума, сморщиванием цитоплазматических гранул и самих клеток, фрагментацией ядра с образованием апоптотических телец, попадающих во вне-

клеточное пространство. Морфологические признаки апоптоза обнаруживаются как в сосудах, так и в самих клетках в ответ на воздействие гипоксии, окислительного стресса. Считается, что причиной гибели клеток при воспалении является прямое токсическое воздействие на клетки свободных радикалов, образующихся при перекисном окислении липидов (ПОЛ) [11, 15]. Доказано, что по мере прогрессирования воспаления начинают преобладать процессы некроза как исход апоптоза [13].

В последние годы апоптоз рассматривается исследователями в качестве патогенетического фактора при различных воспалительных заболеваниях [1, 11, 21, 24, 29]. Воспаление – это универсальная защитная реакция организма на действие различных патогенных факторов (механических, физических, химических, биологических и др.), благодаря которой происходит обезвреживание и уничтожение патологических агентов. В межклеточной сигнализации при развитии воспалительного процесса основную роль играют провоспалительные цитокины, такие как TNF- α , интерлейкины IL-1, IL-6 и IL-8, посредством которых происходит связь с рецепторами на клетках-мишенях и запускаются процессы апоптоза.

При этом TNF- α и IL-1 синтезируются параллельно, обладают способностью индуцировать продукцию друг друга и проявляют многочисленные общие эффекты. TNF- α синтезируется моноцитами, макрофагами и лимфоцитами под влиянием эндотоксинов, вирусов и других цитокинов. Выраженное увеличение концентрации этого цитокина обнаруживается у больных с сепсисом и коррелирует с неблагоприятным прогнозом. Семейство IL-1 включает IL-1 α , IL-1 β и антагонист рецепторов IL-1. Данный воспалительный медиатор наряду с IL-6 проявляет не только локальные, но и системные эффекты, регулируя уровень лихорадки, мышечной слабости, скорость синтеза острофазовых белков. В свою очередь IL-6 синтезируется многими клетками, включая синовиоциты, и стимулирует образование IL-1 и TNF- α . IL-6 участвует в дифференцировке стимулированных В-лимфоцитов в иммуноглобулинсекретирующие плазматические клетки, регуляции острофазового ответа. Содержание IL-6 коррелирует с уровнем таких воспалительных маркеров как СОЭ и вч-СРБ, увеличение его концентрации в сыворотке крови выявлено при многих воспалительных заболеваниях.

Важнейшим регулятором апоптоза является белок p53, который активируется при гипоксии, а также под влиянием воздействия онко- или цитотоксических агентов [6, 12, 23]. При накоплении разрывов в молекулах ДНК, белок p53 обеспечивает их репарацию, однако при необратимых изменениях в ДНК уровень p53 значительно повышает

□ В помощь практикующему врачу

ся, индуцируя процесс апоптоза. К регуляторам ЗГК относится также белок Bcl-2, который модифицирует митохондриальный путь апоптоза за счет образования временных каналов для поступления цитохрома С и других факторов апоптоза [6, 29].

В настоящее время всё чаще появляются научно-исследовательские работы, посвященные изучению значимости апоптоза при физиологических и патологических состояниях в акушерстве и гинекологии. Известно, что ЗГК играет важную роль в таких физиологических процессах, как десквамация эндометрия, атрезия фолликулов в яичниках [9, 26]. Так, К. С. Обединская провела перспективные экспериментальные исследования с целью изучения взаимосвязи между сократительной способностью миометрия после родов и процессов апоптоза [10]. Показано, что основными механизмами послеродовой инволюции матки являются клазмацитоз, апоптоз и некроз. Установлено, что многократная беременность и ее прерывания сопряжены с продолжением пролиферативных процессов в миометрии после родов, удлинением периода инволюции миометрия до 10-и суток в связи со сниженной сократительной способностью. При этом ухудшение васкуляризации миометрия в конце беременности и в послеродовом периоде приводит к адекватному увеличению численности макрофагов без проявлений процесса воспаления в миометрии.

Николаенко С. А. в своих исследованиях изучал пролиферативную и апоптотическую активность клеток на всех стадиях менструального цикла [9] и обнаружил гормонально обусловленный характер апоптоза. Так, на протяжении менструального цикла гибель клеток путем апоптоза и их регенерация происходят в строго регулируемой последовательности и зависят от стадии цикла.

В работах И. С. Метелицы установлен факт экспрессии антигена **Fas (APO-1/C95) на поверхности** $23,42 \pm 2,91\%$ лимфоцитов периферической крови у здоровых женщин, при этом низкая экспрессия выявлена у 75%, а высокая – у 25% обследуемых лиц. При обследовании женщин с воспалительными заболеваниями придатков матки антиген Fas (APO-1/C95) был экспрессирован в $43,9 \pm 7,5\%$ случаев, высокий уровень экспрессии выявлен у 80% пациенток [8].

В исследовании, посвященном изучению молекулярных аспектов хронического эндометрита у женщин разных возрастных групп, О. В. Григорян показал, что в норме возрастное снижение процессов клеточной гибели в эндометрии затрагивает только каспазависимый апоптоз (FasL, p53, Caspase-3), тогда как митохондриальный апоптоз (AIF) не изменяется, однако при развитии эндометрита происходит усиление активности как каспазависимого, так и митохондриального апоптоза [2].

А. В. Шуршалина в диссертационной работе по изучению хронического эндометрита с патологией репродуктивной функции на основании иммуногистохимического исследования эндометрия с маркером плазматических клеток CD138, изучения процессов апоптоза доказала, что в основе патогенеза заболевания лежит нарушение рецептивности ткани и нормальной циклической трансформации [20].

В настоящее время изучение значения процессов апоптоза при воспалительных заболеваниях в акушерстве представляет несомненный клинический интерес, расширяет представления о патогенезе заболевания, однако взгляды ученых по этому поводу противоречивы. Г. Т. Сухих с соавт. определяли уровень апоптоза и экспрессию генов ферментов антиоксидантной защиты (глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы) в плаценте родильниц, перенесших преэклампсию на фоне воспаления. Авторами выявлено, что при преэклампсии уровень апоптоза в плаценте значительно выше в сравнении с состоянием относительно здоровых лиц; в некоторых случаях отмечается разрушение створчатых ворсин за счет ЗГК стромы ворсин и синцитиотрофобласта. В результате окислительного стресса, обусловленного воспалением, происходит повышение уровня апоптоза в ворсинах плаценты: маркеры к апоптозу определяются в клетках трофобласта и стромы ворсин [15]. П. А. Ховхаева с соавт. определяли степень выраженности апоптоза в плаценте при нормально протекающей беременности и преэклампсии и показали, что в основе заболевания лежит системный воспалительный ответ и выраженность апоптоза напрямую коррелирует с тяжестью воспалительного процесса и уровнем активных форм кислорода [18]. В. Ф. Долгушкина и Е. Г. Сюндюкова установили, что при преэклампсии на уровне симпластотрофобласта происходит активация процессов клеточной пролиферации и апоптоза, а в эндотелии капилляров и макрофагов стромы – активация процессов клеточной пролиферации и антиапоптоза [3]. В результате аналогичных исследований были получены данные о том, что тяжелые формы преэклампсии сопровождаются также высокой экспрессией эритропоэтина, обладающего антиапоптотическими и ангиогенными свойствами [7]. В. И. Щербаков всесторонне изучил процессы апоптоза в трофобласте при нормально протекающей беременности и осложненной воспалительными генитальными и экстрагенитальными заболеваниями, установил роль макрофагов в регуляции ЗГК при данной патологии [22]. В своих исследованиях Голубев А. М. и соавт. определяли уровень циркулирующих Fas/Apo-1 у пациентов с системной воспалительной реакцией [1]. Результаты показали значительное повышение уровня ре-

цепторов апоптоза у пациентов с тяжелой степенью воспалительного процесса – $10,4 \pm 8,1$ пг/мл по сравнению с контрольным уровнем $5,0 \pm 0,7$ пг/мл; $p < 0,0001$.

Известно, что в норме ЗКГ служит для удаления клеток, претерпевших воспалительные или мутационные изменения, неопластическую трансформацию, однако, в ряде случаев, происходят генетические поломки, которые приводят к бурной пролиферации клеток, не сдерживаемой процессом апоптоза [25, 26]. Так, С. И. Роговская изучала апоптоз при патологии шейки матки, ассоциированной с вирусом папилломы человека, и установила уровень соотношения процессов пролиферации и апоптоза в норме, а также при воспалительных и предраковых заболеваниях [14]. В работе Т. В. Клинышковой с соавт. проведен корреляционный анализ между хроническим воспалением в полости матки, апоптозом и полипами эндометрия. Установлен дисбаланс экспрессии гормональных рецепторов эндометрия после полипэктомии, взаимосвязанный с реакциями апоптоза и пролиферации [4].

Российскими и зарубежными исследователями глубоко изучены процессы апоптоза при гиперплазии эндометрия на фоне хронического воспаления, а также продемонстрированы ассоциативные связи между воспалительными и апоптотическими процессами при сочетании хронического эндометрита и гиперплазии эндометрия [16, 30, 31]. Так, авторы выявили взаимосвязи между угнетением апоптоза и развитием атипичной гиперплазии эндометрия с аденокарциномой.

В последние годы появилось новое направление научного поиска – протеомика, которая определяется как изучение «протеома», то есть всех белков, синтезируемых в отдельной клетке или в организме в целом [17, 27]. Высокая значимость белков для обеспечения тех или иных функций опосредует их вовлеченность в различные физиологические и патологические процессы с потенциальными возможностями использования в качестве эффективных диагностических маркеров, а также лекарственных средств. Протеомные технологии в исследовании апоптоза с детальным анализом метаболических процессов, протекающих в организме пациента при различных патологических состояниях, существенно улучшит диагностический и терапевтический потенциал современной медицины.

Таким образом, активация или ингибирование апоптотических процессов лежит в основе возникновения различных заболеваний, в том числе воспалительного генеза. Апоптоз является одним из ведущих патогенетических механизмов в развитии морфофункциональных изменений тканей при воспалении. Всестороннее изучение морфо-

логических и биохимических маркеров апоптоза в ближайшей перспективе позволит дифференцированно подходить к прогнозу, диагностике и терапии воспалительных заболеваний.

Литература

1. Голубев, А. М. Апоптоз при критических состояниях / А. М. Голубев, Е. Ю. Москалева, С. Е. Северин [и др.] // Общая реаниматология. – 2006. – № 11. – С. 5–6.
2. Григорян, О. В. Менопаузальный синдром у женщин с нарушением углеводного обмена. Взгляд гинеколога-эндокринолога / О. В. Григорян, Е. Н. Андреева // Трудный пациент. – 2007. – Т. 5, № 9. – С. 14–18.
3. Долгушкина, В. Ф. Особенности плацентарного апоптоза и клеточной пролиферации при преэклампсии / В. Ф. Долгушкина, Е. Г. Сяндюкова // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 2. – С. 13–19.
4. Клинышкова, Т. В. Клиническое значение комплексной оценки рецепторного статуса эндометрия при эндометриальных полипах / Т. В. Клинышкова, Н. Б. Фролова, С. И. Мозговой // Акушерство и гинекология. – 2011. – № 3. – С. 37–41.
5. Майборода, А. А. Апоптоз – гены и белки / А. А. Майборода // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – № 3. – С. 130–135.
6. Манько, В. М., Девришов Д. А. Ветеринарная иммунология. Фундаментальные основы. – М.: Агровет, 2011. – 752 с.
7. Медведев, Б. И. Плацентарная экспрессия эритропоэтина при преэклампсии / Б. И. Медведев, Е. Г. Сяндюкова, С. Л. Сашенков // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2015. – № 1. – С. 4–8.
8. Метелица, И. С. Иммунологический фенотип лимфоцитов периферической крови при патологии женской репродуктивной системы: дис. ... канд. мед. наук. – М., 1996. – 95 с.
9. Николаенко, С. А. Апоптоз и пролиферативные процессы в шейке матки у женщин репродуктивного возраста / С. А. Николаенко, Г. В. Раева // Фундаментальные исследования. – 2004. – № 5. – С. 126–126;
10. Обединская, К. С. Структурные изменения миометрии мышей при его инволюции после многократных родов и прерываний беременности: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2010. – 26 с.
11. Павленко, В. В. Провоспалительные цитокины и маркеры апоптоза при язвенном колите: влияние биологической терапии / В. В. Павленко, Г. А. Катаганова, Н. В. Кораблина, А. И. Павленко // Международный научно-исследовательский журнал. – 2015. – Вып. 9 (40), ч. 4. – С. 25–26.
12. Пальцев, М. А. Молекулярная медицина и прогресс фундаментальных наук / М. А. Пальцев // Вестник РАН. – 2002. – № 1. – С. 13–21.
13. Проскураков, С. Я. Некроз – активная, управляемая форма программируемой клеточной гибели / С. Я. Проскураков // Биохимия. – 2002. – Т. 67, № 4. – С. 467–49.
14. Роговская, С. И. Апоптоз при патологии шейки матки, ассоциированный с вирусом папилломы человека / С. И. Роговская // Гинекология. – 2000. – № 3. – С. 91–94.

□ В помощь практикующему врачу

15. Сухих, Г. Т. Апоптоз и экспрессии генов ферментов антиоксидантной защиты в плаценте при преэклампсии / Г. Т. Сухих, А. М. Красный, Н. Е. Кан [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 5. – С. 11–15.

16. Сухих, Г. Т. Пролиферативная активность и апоптоз в гиперплазированном эндометрии / Г. Т. Сухих, Г. Е. Чернуха, В. П. Сметник [и др.] // Акушерство и гинекология. – 2005. – № 5. – С. 25–29.

17. Сучков, С. В., Гнатенко Д. А., Костюшев Д. С., Крынский С. А., Пальцев М. А. Протеомика как фундаментальный инструмент доклинического скрининга, верификации анализов и оценки применяемой терапии // Вестник РАМН. – 2013. – № 1. – С. 65–71.

18. Ховхаева, П. А. Апоптоз в плаценте при преэклампсии / П. А. Ховхаева, А. М. Красный, Н. В. Тютюнник [и др.] // Медицинский совет. – 2016. – № 2. – С. 102–103.

19. Чепель, Э., Хейни М., Мисбах С., Сновден Н. Основы клинической иммунологии: пер. с англ. – М: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 416 с.

20. Шуршалина, А. В. Хронический эндометрит у женщин с патологией репродуктивной системы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2007. – 36 с.

21. Шешукова, Н. А. Роль воспалительного фактора в опухолевой трансформации эндометрия / Н. А. Шешукова, Т. Д. Гуриев, А. С. Федотова // Гинекология. – 2014. – № 3. – С. 57–59.

22. Щербаков, В. И. Апоптоз в трофобласте и его роль при патологии беременности / В. И. Щербаков // Успехи современной биологии. – 2011. – Т. 131, № 2. – С. 145–158.

23. Ярилин, А. А. Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999. – 608 с.

24. Agić, A. Apoptosis in endometriosis / A. Agić, S. Djalali, K. Diedrich, D. Hornung // Gynecol. Obstet. Invest. – 2009. – Vol. 68, № 4. – P. 217–223.

25. Atasoy, P. Fas-mediated pathway and apoptosis in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium / P. Atasoy, O. Bozdoğan, S. Ereku [et al.] // Gynecol. oncology. – 2003. – Vol. 91, № 2. – P. 309–317.

26. Bozdoğan, O. Apoptosis-related proteins and steroid hormone receptors in normal, hyperplastic, and neoplastic endometrium / O. Bozdoğan, P. Atasoy, S. Ereku [et al.] // Int. J. Gynecol. Pathol. – 2002. – Vol. 21, № 4. – P. 375–382.

27. Cox, J., Mann M. Is proteomics the new genomics? // Cell. – 2007. – Vol. 130(3). – P. 395–8.

28. Kerr, J.F. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics / J. F. Kerr, A. H. Wyllie, A. R. Currie // Brit. J. Cancer. – 1972. – Vol. 26, № 4. – P. 239–257.

29. Kuwana, T. Bcl-2-family proteins and the role of mitochondria in apoptosis / T. Kuwana, D. D. Newmeyer // Curr. Opin. Cell Biol. – 2003. – Vol. 15. – P. 1–9.

30. Reis, F. M. Endometriosis: hormone regulation and clinical consequences of chemotaxis and apoptosis / F. M. Reis., F. Petraglia, R. N. Taylor // Hum. Reproduct. Update. – 2013. – Vol. 19, Is. 4. – P. 406–418.

31. Taniguchi, F. Apoptosis and endometriosis / F. Taniguchi, A. Kaponis, M. Izawa et al. // Front. Biosci (Elite Ed). – 2011. – Vol. 1, N. 3. – P. 648–662.

32. Wang, Sh. Trail and apoptosis induction by TNF-family death receptors / Sh. Wang, W. S. El-Deiry // Oncogene. – 2003. – Vol. 22. – P. 8628–8633.

Поступила 19.04.2017 г.