ISSN 1561-6274. Нефрология. 2001. Том 5. № 4.

© Ю.Б.Перевезенцева, 2001
УДК 616.61-092:611.61.018.1.095.49

Ю.Б.Перевезенцева

АПОПТОЗ И ЕГО РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЧЕК

Yu.B.Perevezentseva

APOPTOSIS AND ITS ROLE IN PATHOGENESIS OF RENAL DISEASES

Кафедра педиатрии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П.Павлова,
Городской консультативно-диагностический центр для детей Санкт-Петербурга, Россия

Ключевые слова: апоптоз, морфогенез почек, аномалии развития почек, болезни почек.
Key words: apoptosis, kidney morphogenesis, kidney abnormalities, renal diseases.

ВВЕДЕНИЕ

Понятие апоптоза. Существует два вида клеточной смерти — некроз и апоптоз. Апоптоз — обязательный компонент жизни многоклеточных организмов: их развития, нормального функционирования и осуществления регуляторных процессов, ответственный за поддержание постоянства численности клеток и формообразование. Это естественная клеточная гибель, которая служит одним из механизмов освобождения организма от необратимо поврежденных или потенциально канцерогенных клеток. Апоптоз является результатом запрограммированных внутриклеточных процессов, сопровождается сморщиванием клеток, и представляет собой активную гибель, обусловленную физиологическими сигналами, передаваемыми с мембранных рецепторов в ядро. Морфологические признаки апоптоза состоят в уменьшении размеров клетки, уплотнении и фрагментации хроматина. В цитоплазме происходит конденсация и сморщивание гранул, расширение эндоплазматического ретикулума. Клетки утрачивают связь с субстратом. Целостность мембраны нарушается позже. Клетки погибают по одиночке и очень быстро фагоцитируются [3]. Наиболее ярким проявлением апоптоза на молекулярном уровне служит фрагментация ДНК. Важнейшим, но не универсальным механизмом реализации апоптоза является деградация ядерной ДНК, происходящая в несколько этапов с образованием сначала больших, а затем все более мелких фрагментов. Начальный этап — образование крупных фрагментов ДНК — знаменует собой вступление в необратимую фазу апоптоза. Заключительный этап — межнуклеосомная деградация ДНК с формированием мелких фрагментов — происходит с участием Ca,Mg-зависимой эндонуклеазы. Ее следствием является фрагментация хроматина и ядра. На регистрации снижения содержания в клетке ДНК основан цитофлюорометрический метод определения апоптоза [3]. Апоптоз может быть вызван различными индукторными факторами, согласно которым существует 3 основных формы апоптоза:

1) гибель клеток вследствие дефицита факторов роста;

2) апоптоз, вызванный глюкокортикоидами и другими агентами сходного действия (для клеток иммунной системы);

3) «активационный» апоптоз, развивающийся в результате дисбаланса активационных сигналов или вследствие экспрессии и последующего связывания специализированных рецепторов для индукторов апоптоза [3].

Разновидности апоптоза, запускаемые действием различных факторов, могут существенно отличаться по начальным механизмам (вплоть до противоположного действия некоторых модифицирующих факторов), однако, на определенных этапах все эти пути сходятся и завершающие, ключевые этапы развития апоптоза осуществляются по единому механизму и имеют одинаковые морфологические проявления. Апоптоз обычно развивается в пределах 12–16 ч после действия индукторных факторов. Это сопровождается экспрессией 10–13 генов, детерминирующих, в основном, ферменты. Специализированным рецептором сигналов к индукции апоптоза является мембранная молекула Fas (CD95), которая принадлежит к семейству рецепторов для факторов некроза опухоли. Естественным лигандом для Fas-рецептора служит лиганд FasL (гомолог фактора некроза опухоли альфа), также экспрессирующийся на части клеток под влиянием активации. На оценке экспрессии на поверхности лимфоцитов CD-95 (Fas-рецептора) основано выявление апоптоза методом проточной цитофлюорометрии [3]. Непосредственной

причиной гибели клеток при апоптозе, вероятно, служит истощение пула АТФ, являющееся следствием активации поли(АДФ-рибоза)полимеразы в ответ на повреждение ДНК. Обязательный признак апоптоза — сморщивание клеток и уплотнение мембран — связывают с активацией трансглутаминазы, которая вызывает перекрестное сшивание мембранных белков. Перестройка фосфолипидной структуры мембран приводит к экспрессии на поверхности клеток детерминантных групп, распознаваемых фагоцитами, что способствует быстрому поглощению ими апоптотических клеток.

К ключевым механизмам реализации апоптоза относят активацию некоторых протеиназ. Это сериновые протеиназы гранзимы, участвующие также в осуществлении цитолиза киллерными клетками (апоптоз является одним из механизмов его реализации), а также каспазы, к которым относится более 10 ферментов, включая ICE (интерлейкин-1-конвертирующий фермент). Выбор направления сигнализации в сторону апоптоза в большой степени зависит от экспресии генов c-myc и p53. Последний связан с ДНК и реагирует на накопление нерепарированных разрывов ее нитей. Формирование большого числа разрывов ДНК, например, при действии радиации, также как генетические преобразования при трансформации клеток, вызывают апоптоз этих клеток, включаемый с участием p53 [3]. Другими важными физиологическими регуляторами апоптоза являются цитокины. Цитокины — это обширная группа белков, регулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток при связывании со специфическими рецепторами на клетках-мишенях. В зависимости от структуры и функции они подразделяются на три большие группы: факторы роста (колониестимулирующие факторы, эпидермальный фактор роста, инсулино-подобный фактор роста и др.), семейство фактора некроза опухоли и спиральные цитокины (интерлейкины, интерфероны). Эффект цитокинов на клетки неоднозначен: для одних они выступают в роли индукторов апоптоза, для других в роли ингибиторов. Это зависит от типа клетки, стадии ее дифференцировки и функционального состояния [1].

Известно несколько генов, блокирующих развитие апоптоза, bcl-2, bcl-x, bag-1. Продуктом гена bcl-2 является митохондриальный белок Bcl-2. Экспрессия этого белка обнаружена именно в тех клетках, которые устойчивы к апоптозу. Механизм его антиапоптотического действия точно не установлен. Возможно, это действие связано с антиоксидантной активностью Bcl-2 и с предотвращением образования липидных перекисей, участвующих в запуске апоптоза [3]. Есть данные о том, что реализация действия рассматриваемых защитных факторов связана с инактивацией родственного фактора, обладающего противоположным влиянием, — Bax. Bax способствует формированию протеиназы Ich-1b — одного из ключевых ферментов апоптоза. При образовании гетеродимера Bax-Bcl-2 эта активность Bax нейтрализуется. Имеется целое семейство факторов, родственных Bax и способствующих развитию апоптоза — Bak, Bik, Bad [3].

Роль апоптоза в процессе развития почки. Биологическая роль апоптоза состоит в регуляции численности клеточных популяций, начиная с самых ранних этапов развития органов. В течение почечного развития происходят интенсивные процессы как пролиферации, так и апоптоза клеток. Развитие органа зависит от взаимодействия клетки и окружающей ткани, что и происходит при формировании почки. В процессе развития индуктивная передача сигналов между мезенхимой и эпителием контролирует органогенез всех трех типов почек — пронефроса, мезонефроса и метанефроса. Финские исследователи [15] на первый план выдвигают роль факторов траснкрипции, сигнальных молекул, факторов роста и их рецепторов, а также компонентов экстрацеллюлярного матрикса в развитии почки. Отсюда можно сделать вывод, что нарушения взаимодействия между клеткой и окружающей тканью, а также мутации генов, кодирующих факторы роста и дифференцировки клеток почек, могут приводить к аномалиям развития почек за счет активации апоптоза. Так, новозеландские ученые [27] установили, что ген PAX2 — один из членов семейства генов развития, который высоко содержится в ДНК-закрепляющих доменах, кодирует фактор траснкрипции, экспрессирующийся в течение эмбрионального развития, в частности, в мочевыделительной системе. Мутация этого гена приводит к аномалиям развития почек — в подавляющем большинстве случаев к гипоплазии. Дисплазия почек представляет собой уникальную модель нарушенного эпителиально-мезенхимального взаимодействия, которое приводит к образованию уродливых разветвлений канальцев, окруженных недифференцированными и метапластическими мезенхимальными клетками. Английские ученые [33] установили, что диспластический эпителий человека экспрессирует фактор транскрипции PAX2, фактор выживания bcl-2 и молекулу клеточной адгезии и сигнализации галектин-3. Постоянная экспрессия этих генов приводит к пролиферации диспластических кист и, следовательно, к массивному росту мультикистозных почек. Было обнаружено заметное усиление апоптоза в недифференцированных тканях вокруг диспластичного эпителия, что может служить возможным механизмом регресса (инволюции) диспластичных мультикистозных почек — факта, давно установленного и подтвержденного [6, 24]. Поэтому, несмотря на

то, что такие почки не могут выполнять экскреторную фукцию, было бы неправильно рассматривать их как нефункционирующие органы, потому что они высокоактивны в экспрессии генов и клеточном обороте. Дальнейшее изучение «молекулярных повреждений» при аномалиях развития почек открывает перспективу внедрения новых терапевтических вмешательств, приводящих к усилению дифференцировки клеток-предшественников.

Известно, что в пролиферации и дифференцировке клеток почек принимает участие экстрацеллюлярная сигнал-регулирующая киназа-ERK (из семейства митоген-активирующих протеин-киназ), в то время как киназа того же семейства JNK (c-Jun n-terminal kinase) ингибирует клеточный рост и индуцирует апоптоз [23]. Это подтверждено исследованиями [23], согласно которым, в нефрогенной зоне эмбриональной почки клетками бластемы, мезенхимальными клетками и эпителием зародыша мочеточника активно экспрессировалась ERK. В то же время в неонатальной почке ERK преобладала в глубоких отделах коркового слоя и мозговом слое почек, что авторы связывают с созреванием канальцев. JNK была экспрессирована клетками канальцев и подоцитами взрослой почки. Получены противоречивые данные, касающиеся киназы p38. Ранее указывалось, что ее экспрессия сопровождалась ингибицией роста клеток и апоптозом, в исследованиях [23] выявлено, что ее экспрессия выше в развивающейся почке, чем в зрелой. В последнее время большая роль в регуляции изменений числа клеток (пролиферации или апоптоза), а также регуляции изменений размера клеток (гипертрофии) клубочков и тубулоинтерстиция в ответ на иммунные и неиммунные формы повреждения отводится регуляторным белкам клеточного цикла (циклическим и циклин-зависимым киназам и их ингибиторам) [30].

Апоптотические механизмы клеточной смерти при повреждении канальцев почек включают активацию эндонуклеаз и некоторых медиаторов (оксидантов, каспаз и керамидов), которые регулируют этот процесс [32]. Для химического апоптоза клеток почечного эпителия характерной чертой на заключительном этапе является активация каспазы-3 [34]. Существуют свидетельства о вовлечении в процесс программированной клеточной смерти ангиотензина II, однако механизмы этого действия еще недостаточно ясны [19]. Получены данные [12], что ингибиторы ангиотензина II (эналаприл, лозартан) способны ослаблять экспрессию апоптотических генов. Известно, что активация Fas-рецепторов посредством FasL — цитокина клеточной мембраны — приводит к апоптозу клеток. Обнаружено, что в нормальных (здоровых) клетках почек крыс и мышей присутствует мРНК FasL и главным участком экспрессии FasL является проксимальный тубулярный эпителий, который в обычных условиях Fas — резистентен [17]. Однако при высоких концентрациях FasL или при стимуляции клеток эпителия проксимальных канальцев воспалительными медиаторами (фактор некроза опухоли — альфа, гамма-интерферон и липополисахарид) они увеличивали клеточную поверхность экспрессии Fas и становились чувствительными к Fas-индуцированному апоптозу. Авторы делают вывод, что экспрессия FasL, свойственная нормальным почечным клеткам, может играть роль в поддержании гомеостаза клеток нормальной (здоровой) почки и при ее повреждении [7].

Апоптоз в модели обструктивного повреждения почки. Односторонняя обструкция мочеточника (ООМ) — модель повреждения почки, характеризующаяся прогрессирующим тубулоинтерстициальным фиброзом при относительной незатронутости гломерул и без развития нефрогенной гипертензии или нарушений липидного метаболизма. Эта модель широко используется для изучения особенностей морфогенеза почки в неблагоприятных условиях. Апоптоз является доминирующим механизмом клеточного ответа при хроническом повреждении почки, вызванном обструкцией [15], и сопровождается усилением клеточной пролиферации в интерстиции [11,16]. Обструкция мочеточника индуцирует образование канальцевых и клубочковых кист и останавливает развитие почки [5, 16]. Дисрегуляция апоптоза, по мнению R.L.Chevalier и соавт. [5], может быть ответом на повреждение почки, вызванное ООМ, и лежать в основе развития кистозных заболеваний почки или почечных дисплазий. При исследовании последствий обструкции уретры по данным аутопсий американские ученые обнаружили [28] выраженные диспластические и кистозные изменения в почках, причем отмечалась обратная корреляция между степенью почечной дисплазии и гестационным возрастом, в котором произошла обструкция, в противоположность кистозным изменениям. Анализ фрагментов ДНК почечной ткани показал усиление апоптоза в мезенхимальных и тубулярных клетках во всех случаях эмбриональной обструктивной уропатии, вызванной обструкцией уретры [28]. Многими исследователями доказано усиление апоптоза клеток канальцев и интерстиция при ООМ в развивающейся почке [5, 10—12, 16, 22, 28]. Механизм активации программированной гибели клеток, по мнению одних, связан с ингибицией экспрессии bcl-2 в канальцах почки при хронической обструкции мочеточника [5], по данным других ученых [11] отсутствие ингибитора p27 циклин-зависимых киназ (регуляторов клеточного цикла) приводит к усилению пролиферации клеток тубулярного эпителия и апоптозу в условиях ООМ, в то время как ингибитор p21 служит

для ограничения пролиферации миофибробластов в интерстиции обструктивной почки. Апоптотические изменения клеток канальцев почек ассоциировались с увеличением содержания проапоптотического протеина Bax и снижением антиапоптотического протеина Bcl-2 [16]. Эти результаты соответствуют гипотезе, что Bcl-2 подавляет апоптоз клеток почечного канальцевого эпителия [5]. Одним из возможных механизмов, с помощью которого почка сама себя защищает от апоптоза, вызванного обструкцией мочевыводящих путей, является активация экспрессии гена гепарин-связанного эпидермального фактора роста в клетках почечного эпителия, оказывающего цитопротективный эффект в условиях ООМ в ответ на апоптотические сигналы [22]. Однако в гладкомышечных клетках лоханки при тех же условиях не выявлено усиления экспрессии этого гена. Другие исследователи [12] отмечают нефропротекторный эффект биофлавоноидов (куркумин, кверцетин) и ингибиторов ангиотензина II (эналаприл, лозартан) при ООМ благодаря их способности ослаблять экспрессию апоптотических и хемокинных генов (кодирующих факторы хемотаксиса). Показано, что остеогенный протеин-1 (ОП-1) предотвращает интерстициальное воспаление и фиброз, вызванные ООМ [10]. Механизм индуцированной остеогенным протеином-1 защиты почки связан с предупреждением канальцевой атрофии, сохранением целостности тубулярного эпителия в результате блокирования стимуляции эпителиальными клетками апоптоза, вызванного ООМ.

Апоптоз и экстрацеллюлярный матрикс. Роль компонентов экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) в активации или подавлении апоптоза широко изучается [9, 18, 21, 26, 30]. Так, установлено, что отделение эпителиальных клеток собирательных канальцев мозгового и коркового слоя почек мышей от матрикса индуцирует апоптоз [26]. Активация p38 митоген-активирующей протеин-киназы индуцирует подавление взаимодействия клеток с ЭЦМ, но не участвует непосредственно в апоптозе. Для апоптоза, вызванного отделением клеток от ЭЦМ, характерна активация каспазы-8 [26]. Американскими учеными [21] выдвинута гипотеза, согласно которой компоненты ЭЦМ могут отличаться по способности поддерживать выживаемость клеток мезангиума путем подавления апоптоза. С помощью исследований in vitro обнаружено, что коллаген IV типа и ламинин (компоненты нормального ЭЦМ) защищают мезангиальные клетки крыс от апоптоза. Напротив, коллаген I типа, фибронектин и остеонектин, которые экспрессируются при воспалении клубочков почек, не способствуют выживанию мезангиальных клеток. Однако апоптоз-ингибирующий эффект коллагена IV типа и ламинина не был связан с изменением содержания в клетке апоптоз-регулирующих белков из семейства Bcl-2. Таким образом, выживаемость гломерулярных мезангиальных клеток зависит от их взаимодействия с ЭЦМ. Другие исследователи считают [9, 18], что баланс между накоплением компонентов ЭЦМ и его деградацией может играть роль в развитии и прогрессии нефросклероза. Так, склеротический процесс может быть даже полностью обратим, если терапевтическими вмешательствами усилить процессы деградации матрикса путем увеличения протеолитической активности и ослабить действие ингибиторов деградации матрикса. Деградация протеинов ЭЦМ происходит под действием протеаз, особенно матрикса металлопротеиназ, которые можно классифицировать на четыре основные группы: интерстициальные коллагеназы, желатиназы, стромлизины и металлопротеиназы мембранного типа. В почках эти ферменты синтезируются собственно гломерулярными клетками и клетками канальцевого эпителия [18]. Есть данные, что металлопротеиназы вовлечены в процесс регуляции клеточной пролиферации и апоптоза [18]. Однако при нефропатиях (главным образом, при гломерулонефритах и диабетической нефропатии) металлопротеиназы играют двоякую роль как ферменты антифиброзного действия и как провоспалительные медиаторы. По-видимому, точная биологическая функция металлопротеиназ при каждом конкретном заболевании почек зависит от уровня их активности и от течения заболевания (острое или хроническое).

Роль апоптоза в патогенезе некоторых заболеваний почек. Ответ на повреждение клубочковых или тубулоинтерстициальных клеток при большинстве форм заболеваний почек включает изменение в числе клеток (пролиферация или апоптоз) и в размере клеток (гипертрофия). Аномалия клеточного числа — характерная черта заболеваний почек. При гломерулярном воспалении доказан апоптоз клеток мезангиума [21] и других клеток. Кроме того, поствоспалительное рубцевание характеризуется изменениями в составе экстрацеллюлярного матрикса и прогрессирующей потерей нормальных клеток, приводя к прогрессии и необратимости гломерулосклероза. То есть, потеря клеток может происходить в процессе острого воспаления и поствоспалительного рубцевания почки [21]. Как указывалось ранее, выживание мезангиальных клеток зависит от взаимодействия с ЭЦМ [21]. При повреждении почки в молекулярной регуляции апоптотической смерти клетки играют роль факторы выживания и летальности во внеклеточном микроокружении, а также внутриклеточные регуляторы апоптоза типа рецепторов смерти, проапоптотических и антиапоптотических протеинов, митохондрий и каспаз. Кроме того, доказана роль апоптоза в генезе, персистенции, прогрессии и прекращении повреждения почек [25]. В ряде исследований [7, 8] показано, что аминогликозидные анти-

биотики (гентамицин, в частности) в дозах ниже терапевтического уровня индуцируют апоптоз эпителия проксимальных канальцев у крыс. Апоптоз развивался почти линейно в зависимости от времени и концентрации лекарства. Гентамицин-индуцированный апоптоз при тех же условиях развивался и в культуре эмбриональных фибробластов [7]. По мнению исследователей, проводивших это изучение, способность гентамицина к индукции апоптоза тубулярных клеток вероятно связана с его способностью концентрироваться в эпителии канальцев при системном введении. В других исследованиях отмечено, что гентамицин-индуцированный апоптоз в клетках проксимального тубулярного эпителия происходил в отсутствие некроза и коррелировал с пролиферативным ответом тубулярных и перитубулярных клеток [8]. В сравнительном изучении эффекта аминогликозидов различных поколений выявлено, что для гентамицина, и в меньшей степени для амикацина и изепамицина, отмечался параллелизм между степенью лекарственно-индуцированного фосфолипидоза (фосфолипидов коркового слоя почки), апоптоза и пролиферативного ответа. В то же время нетилмицин вызывал значимый фосфолипидоз, но более умеренный апоптоз и пролиферативный ответ. Авторы высказывают предположение, что апоптоз является одним из механизмов повреждения почки в структуре нефротоксичности аминогликозидных антибиотиков. Поэтому более безопасным является использование нетилмицина, а также амикацина и изепамицина. Другими учеными [4] было установлено, что циклоспорин А индуцирует апоптоз в разных линиях почечных клеток посредством индукции NO (оксид азота)-синтазы через протеин p53. Этот эффект играет роль в нефротоксичности циклоспорина А. Немаловажным является изучение роли токсинов бактерий, учитывая высокую частоту инфекций мочевых путей среди заболеваний почек. Так, в изучении in vitro установлено [14], что вероцитотоксин-1, продуцируемый Escherichia coli, непосредственно индуцирует апоптотическую смерть клеток эпителия проксимальных канальцев человека, а ко-инкубация его с фактором некроза опухоли-альфа усиливала вероцитотоксин-индуцированный апоптоз. В работе K.G.Stravodimos и соавт. [31] выявлена способность Escherichia coli стимулировать апоптоз мононуклеаров, инфильтрирующих ткань почки в ходе воспаления, что усиливает ее вирулентность и играет роль в образовании внутритканевых почечных рубцов. Существуют данные, что активация Fas-рецепторов посредством цитокина клеточной мембраны Fas ligand стимулирует апоптоз гломерулярных клеток и участвует в гибели клеток канальцев при острой почечной недостаточности [17]. Теми же исследователями было установлено тотальное увеличение экспрессии FasL мРНК и FasL-протеина гломерулярными клетками при двух разных моделях клубочкового повреждения — у крыс с иммунокомплексным пролиферативным гломерулонефритом и у мышей с lupus-нефритом. На модели мезангиопролиферативного гломерулонефрита у крыс [18] повышение пролиферации мезангиальных клеток было связано с повышением экспрессии матрикс-металлопротеиназ-2 (ММП-2) и накоплением протеинов экстрацеллюлярного матрикса. При сахарном диабете повышение плазменной концентрации ММП-9 является ранним маркером диабетической нефропатии. Эти варианты повреждения почек могут быть уменьшены синтетическими ингибиторами ММП [17]. Авторы выдвигают гипотезу, основанную на способности ММП к деградации компонентов ЭЦМ, согласно которой неправильная регуляция ММП и их ингибиторов может играть важную роль в прогрессии нефропатий. Однако до сих пор не установлено, является ли неправильная регуляция ММП и их ингибиторов причиной или результатом заболеваний почек [18].

Известно, что активированные нейтрофилы играют важную роль в патогенезе гломерулонефрита, ОПН и других воспалительных заболеваний почек. Нейтрофилы вызывают апоптоз, а некоторые воспалительные медиаторы замедляют этот процесс. Таким образом, разрешение нейтрофил-индуцированного воспаления основывается в значительной степени на удалении апоптотических нейтрофилов. В работе [13] установлено, что интерлейкин-8 и гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор задерживают нейтрофильный апоптоз путем стимуляции экстрацеллюлярной сигнал-регулирующей киназы (ERK) и фосфоинозитид-3-киназы.

При ХПН плохой прогноз отчасти предопределяет атрофия канальцев почек, немаловажную роль в которой принимает Fas-опосредованный апоптоз клеток тубулярного эпителия [29]. Выявлено, что интерлейкин-1 — альфа и фактор некроза опухоли-альфа секретируются при ХПН в исследованиях in vitro и стимулируют повышение экспрессии Fas в культуре клеток канальцевого эпителия [29]. Таким образом, согласно этим данным, Fas-механизм приводит к смерти клеток почечного эпителия и является причиной тубулярной атрофии при ХПН.

Некроз и апоптоз. Смерть клетки явилась важной и захватывающей областью изучения. И хотя на сегодня признаны два вида клеточной гибели — некроз и апоптоз, немаловажным оказалось признание, что механизмы, традиционно связанные с апоптотическим вариантом смерти клетки, наблюдались при некротической форме повреждения. Путь, по которому пойдет клетка, зависит от происхождения (природы) инициирующего токсического агента и от серьезности ишемического повреждения. И вполне вероятно, что биохимические каскад-

ные реакции, приводящие к апоптотической или некротической форме смерти клетки, активируются почти одновременно и могут иметь некоторые общие пути [32]. Установлено, что оксалат-метаболит, экскретируемый почками, вызывает оксидантный стресс и смерть почечных клеток при патофизиологических концентрациях [20]. Однако, оксалат-индуцированная смерть клеток имеет характеристики как апоптотической, так и некротической форм клеточной смерти. Существуют данные, что одни и те же токсины вызывают апоптоз при одних условиях и некроз при других [20, 33]. Характер ответа имеет важные последствия для поврежденной ткани, в которой некротические клетки вызывают воспалительный ответ, тогда как апоптотические клетки — нет. Получены данные, что цистеин — токсический метаболит — стимулирует некроз или апоптоз клеток почек в зависимости от химической структуры его конъюгатов и от антиоксидантного статуса [34]. Известно, что некроз ассоциируется с действием вредоносных агентов и обстоятельств, приводящих к нарушению целостности клеточной мембраны (вследствие повреждения или формирования пор) и изоляции внутренней среды клетки от ее окружения, тогда как апоптоз может быть вызван действием поступающих извне сигналов, которые сами по себе не являются токсичными или деструктивными. В естественных условиях первый тип гибели клеток может реализоваться при действии факторов агрессивной природы и реакции на них организма (что выражается, например, в лизисе микробных клеток с участием комплемента), но едва ли играет существенную роль в нормальной жизнедеятельности организма. Классические причины, приводящие к некрозу клетки, гипертермия, ингибирование окислительного фосфорилирования, гликолиза или цикла Кребса, гипоксия, действие комплемента или различных токсинов. Апоптоз, напротив, является обязательным компонентом жизни многоклеточных организмов, одновременно внося вклад в реакцию клеток на внешние воздействия и проявления иммунной защиты. Индукцию апоптоза могут осуществлять такие неспецифические факторы как температура, токсические агенты, оксиданты, свободные радикалы, гамма и УФ-излучение, бактериальные токсины и др. Но при увеличении дозы соответствующего агента развивается некроз клетки (таблица).

Сравнительная характеристика апоптоза и некроза клеток (по А.А.Ярилину [2]).

Показатель	Апоптоз	Некроз
Причинный фактор	Сигнал, воспринимаемый мембранными рецепторами, или отсутствие физиологического сигнала	Токсичные и мембранотропные агенты, неадекватные внешние условия
Скорость развития	1-12 ч	В пределах 1 ч
Причины гибели клетки	Деградация ДНК, нарушение работы генов, энергетики клетки	Нарушение целостности мембраны
Локализация первичного повреждения	Обычно в ядре	Обычно в клеточной мембране
Изменение размера клетки	Уменьшение (сморщивание)	Увеличение (набухание)
Изменение ядра	Конгломераты хроматина, прилежащие к мембране, пикноз, фрагментация	Набухание
Изменения в цитоплазме	Конденсация цитоплазмы, уплотнение гранул	Лизис гранул, разрыв их мембран
Изменение клеточной мембраны	Потеря микроворсинок, образование пузырей	Нарушение целостности
Состояние ДНК	Разрывы с образованием сначала крупных, затем мелких фрагментов	Неупорядоченная деградация
Энергозависимость	Зависит	Не зависит
Зависимость от синтеза макромолекул	Обычно зависит от синтеза РНК и белка	Не зависит
Примеры проявления у животных	Метаморфоз, гормонозависимая атрофия, интерфазная радиационная гибель лимфоцитов, отрицательная селекция лимфоцитов	Гибель клеток от гипоксии, действия ядов и токсинов, вирусный цитолиз, комплемент-зависимый цитолиз
Методы выявления:		
морфологические	Сморщивание клетки	Набухание клетки
тинкториальные	Ослабление окрашиваемости ДНК-тропными красителями	Восприятие суправитальных красителей
цитофлюорометрические	Уменьшение размеров клеток, гиподиплоидность, дифференцированное окрашивание комбинацией красителей	–
электрофоретические	Формирование «лесенки» при электрофорезе ДНК	Размазанное пятно при при электрофорезе ДНК

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение роли апоптотических процессов в норме и при патологии открывает новые механизмы в понимании патогенеза аномалий развития и заболеваний почек и определяет возможность новых терапевтических вмешательств. Наличие большого количества неизвестных и малоизученных моментов делает эту область науки одной из самых изучаемых и перспективных в настоящее время.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Белушкина Н.Н. Роль апоптоза в патогенезе заболеваний. http://science-faculty.net.ru/lek/apoptosis.htm. 1997.

2. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // Иммунология.—1996.—№ 6.—С. 10–15.

3. Ярилин А.А. Основы иммунологии. — М.: Медицина, 1999.—С. 308–313.

4. Amore A., Emancipator S.N., Cirina P. Nitric oxide mediates cyclosporine-induced apoptosis in cultured renal cells // Kidney Int.—2000.—Vol. 57, № 4.—P. 1549–1559.

5. Chevalier R.L., Smith C.D., Wolstenholme J. Chronic ureteral obstruction in the rat supresses renal tubular Bcl-2 and stimulates apoptosis // Exp. Nephrol.—2000.—Vol. 8, № 2.—P. 115–122.

6. Cochat P pour la Societe francaise de nephrologie pediatrique. La dysplasie renale multikystique: etude multicentrique // Ann. Pediatr (Paris).—1994.—Vol. 41.—P. 24–31.

7. El-Moudden-M., Laurent G., Mingeot-Leclercq M.P. Gentamicin-induced apoptosis in renal cell lines and embryonic rat fibroblastes // Toxicol. Sci.—2000.—Vol. 56, № 1.—P. 229–239.

8. El-Moudden-M., Laurent G., Mingeot-Leclercq M.P. Apoptosis in renal proximal tubules of rats treated with low doses of aminoglycosides // Antimicrob. Agents. Chemother.—2000.—Vol. 44, № 3.—P. 665–675.

9. Fogo A.B. Glomerular hypertension, abnormal glomerular growth, and progression of renal diseases // // Kidney Int.—2000.—Vol. 57, suppl. 75.—P. S15–S21.

10. Hruska K.A., Guo G., Wozniak M. Osteogenic protein-1 prevents renal fibrogenesis associated with ureteral obstruction // Amer. J. Physiol. Renal. Physiol.—2000.—Vol. 279, № 1.—F. 130–143.

11. Hughes J., Brown P., Shakland S.J. Cyclin kinase inhibitor p21CIP1/WAP1 limits intersticial cell proliferation following ureteric obstruction // Amer. J. Physiol.—1999.—Vol. 277 (6 pt. 2).—P. F948–F956.

12. Jones E.A., Shahed A., Shoskes D.A. Modulation of apoptotic and inflammatory genes by bioflavonoids and angiotensin II inhibitor in ureteral obstruction // Urology.—2000.—Vol. 56, № 2.—P. 346–351.

13. Klein J.B., Rane M.J., Scherzer J.A. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor delays neutrophil constitutive apoptosis through phosphoinositide 3-kinase and extracellular signal-regulated kinase pathways // J.Immunol.—2000.—Vol. 164, № 8.—P. 4286–4291.

14. Kodama T., Nagayama K., Yamada K. Induction of apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells by Escherichia coli verocytotoxin 1 in vitro // Med. Microbiol. Immunol. Berl.—1999.—Vol. 188, № 2.—P. 73–78.

15. Kuure S., Voulteenaho R., Vainio S. Kidney morphogenesis: cellular and molecular regulation // Mech.Dev.—2000.—Vol. 92, № 1.—P. 31–45.

16. Liapis H., Yu H., Steinhardt G.F. Cell proliferation, apoptosis, Bcl-2 and Bax expression in obstructed opossum early metanephron // J.Urology.—2000.—Vol. 164, № 2.—P. 511–517.

17. Lorz C., Ortiz A., Justo P. Proapoptotic Fas ligand is expressed by normal kidney tubular epithelium and injured glomeruli // J. Amer. Soc. Nephrol.—2000.—Vol. 11, № 7.—P. 1266–1277.

18. Marti H.P. Role of matrix metalloproteinases in the progression of renal lesions // Press.Med.—2000.—Vol. 29, № 14.—P. 811–817.

19. Meggs L.G., Kodali P. Emerging concepts in antihypertensive therapy: the benefits of angiotensin II blockade // J. Assoc. Acad. Minor. Phys.—1999.—Vol. 10, № 2.—P. 34–43.

20. Miller C., Kennington L., Cooney R. Oxalate toxicity in renal epithelial cells: characteristics of apoptosis and necrosis // Toxicol. Appl. Pharmacol.—2000.—Vol. 162, № 2.—P. 132–141.

21. Mooney A., Jackson K., Bacon R. Type IV collagen and laminin regulate glomerular mesangial cell susceptibility to apoptosis via beta(1)integrin-mediated survival signals //Amer. J. Pathol.—1999.—Vol. 155, № 2.—P. 599–606.

22. Nguyen H.I., Bride S.H., Badawy A.B. Heparin-binding EGF-like growth factor is up-regulated in the obstructed kidney in a cell- and region-specific manner and acts to inhibit apoptosis // Amer. J. Pathol.—2000.—Vol. 156, № 3.—P. 889–898.

23. Omori S., Hida M., Ishikura K. Expression of mitogen-activated protein kinase family in rat renal development // Kidney Int.—2000.—Vol. 58, № 1.—P. 27–37.

24. Orejas G., Malaga S., Santos F. Multicystic dysplastic kidney: absence of complications in patients treated conservatively // Child. Nephrol. Urol.—1992.—Vol. 12.—P. 35–39.

25. Ortiz A., Lorz C., Catalan M.P. Role and regulation of apoptotic cell death in the kidney. Y2K update // Front. Biosci.—2000.—Vol. 5.—P. D735–D749.

26. Park M., Lee R.H., Lee S.H., Jung J.S. Apoptosis induced by inhibition of contact with extracellular matrix in mouse collecting duct cell // Nephron.—1999.—Vol. 83, № 4.—P. 341–351.

27. Porteous S., Torban E., Cho N.P. Primary renal hypoplasia in humans and mice with PAX2 mutations: evidence of increased apoptosis in fetal kidneys of PAX2(1 Neu)+/-mutant mice // Hum. Mol. Genet.—2000.—Vol. 9, № 1.—P. 1–11.

28. Poucell-Hatton S., Huang M., Bannykh S. Fetal obstructive uropathy: patterns of renal pathology // Pediatr.Dev.Pathol.—2000.—Vol. 3, № 3.—P. 223–231.

29. Schelling J.R., Cleveland R.P. Involvement of Fas-dependent apoptosis in renal tubular epithelial cells deletion in chronic renal failure // Kidney Int.—1999.—Vol. 56, № 4.—P. 1313–1316.

30. Shankland S.J., Wolf G. Cell cycle regulatory proteins in renal diseases: role of hypertrophy, proliferations, and apoptosis // Amer. J. Physiol. Renal. Physiol.—2000.—Vol. 278, № 4.—P. F 515–F 529

31. Stravodimos K.G., Singhal P.C., Sharma S. Escherichia coli promotes macrophages apoptosis // J.Endourol—1999.—Vol. 13, № 4.—P. 273–277.

32. Ueda N., Shah S.V. Role of endonucleases in renal tubular epithelial cells injury // Exp.Nephrol.—2000.—Vol. 8, № 1.—P. 8–13.

33. Woolf A.S., Winyard P.J. Gene expression and cell turnover in human renal dysplasia // Histol. Histopathol.—2000.—Vol. 15, № 1.—P. 159–166.

34. Zhan Y., van-de-Water B., Wang Y., Stevens J.L. The roles of caspase-3 and bcl-2 in chemically-induced apoptosis but not necrosis of renal epithelial cells // Oncogene.—1999.—Vol. 18, № 47.—P. 6505–6512.

Поступила в редакцию 21.08.2001 г.