

© Л.Б.Пак, А.И.Дубиков, Т.А.Кабанцева, А.А.Василюк, О.М.Григорян, 2013
УДК 612.014:577.7+616.61

Л.Б. Пак¹, А.И. Дубиков¹, Т.А. Кabanцева⁴, А.А. Василюк², О.М. Григорян³ АПОПТОЗ И ПАТОЛОГИЯ ПОЧЕК

L.B. Pak, A.I. Dubikov, T.A. Kabanceva, A.A. Vasilyuk, O.M. Grigoryan APOPTOSIS AND NEPHROPATHIES

¹Кафедра факультетской терапии, ²кафедра факультетской хирургии и урологии, ³V курс лечебного факультета Тихоокеанского государственного медицинского университета, ⁴нефрологическое отделение клинической больницы № 2, г.Владивосток, Россия

РЕФЕРАТ

Обзор дает представление о влиянии некоторых молекулярных механизмов апоптоза на развитие нефропатий различного генеза. Описаны пути реализации и значение молекул апоптоза (p53, PUMA, MDM2, p21) в развитии патологии почек, связанных с повреждением клубочков, ишемией, в развитии почечной недостаточности. Охарактеризован тонкий механизм влияния молекулы p53 на онкогенез. Отмечено, что экспрессия p53 определяет нефротоксичность ряда противоопухолевых препаратов. Функции проапоптотического протеина PUMA определены лишь в контексте онкогенеза и нефротоксичности. Рассмотрена роль молекулы MDM2 как предиктора опухолевой пролиферации и эволюции волчаночного нефрита. Описан существенный вклад белка p21 в развитие острой почечной недостаточности, фокально-сегментарного гломерулосклероза, диабетической нефропатии, а также в прогрессирование аутоиммунных процессов в почках. Апоптоз является активным механизмом в развитии хронической болезни почек, и его дальнейшее изучение определяет возможность поиска инновационных подходов в предупреждении, прогнозировании и лечении болезней почек.

Ключевые слова: апоптоз, p53, PUMA, MDM2, p21, нефропатия.

ABSTRACT

The review gives an idea of impact of some molecular mechanisms of apoptosis on the development of nephropathies of various origins. Ways of realization and contribution of molecules (p53, PUMA, MDM2, p21) in renal disease associated with glomerular injury, ischemia, in the development of renal failure and their participation in the progression and prognosis of renal disorders were described. A subtle mechanism of the effect of the molecule p53 on cancerogenesis is revealed. The expression of p53 protein defines a nephrotoxicity of a number of chemotherapeutic drugs. Changes and influence of a proapoptotic protein PUMA were defined only in a context of cancerogenesis and nephrotoxicity. The role of a molecule MDM2 as predictor of cancerogenesis and clinical course of lupus nephritis is considered. Role of molecule MDM2 as a predictor of neoplastic proliferation and evolution of lupus nephritis was studied. The senescence marker, p21 molecule makes a contribution to development of acute renal failure, focal-segmental glomerulosclerosis, diabetic nephropathy, autoimmune disorders in kidneys. Recognizing apoptosis as one of mechanisms in development of kidney diseases, this review gives strong incentive for further research and discovery of innovative approaches for prevention, prognosis and treatment of nephropathies.

Key words: apoptosis, p53, PUMA, MDM2, p21, nephropathy.

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая болезнь почек (ХБП) становится одной из наиболее актуальных проблем современного здравоохранения и общества в целом [1, 2]. Результаты эпидемиологических исследований последних десятилетий показали, что она встречается гораздо чаще, чем предполагалось ранее. В развитых странах по своей значимости она сближается с болезнями сердечно-сосудистой системы, опухолями и травмами [1]. Несмотря на достижения современной нефрологии, не все звенья патогенеза, а также факторы риска, модификация которых позволила бы снизить темпы прогрессирования почечной патологии, хорошо изучены [1–3]. Актуальным направлением

становится детальное исследование реализации различных механизмов патогенеза в развитии заболеваний почек, их точная морфологическая диагностика и выявление новых биологических мишеней для целенаправленного лечения. Немалый интерес представляют данные о роли апоптоза в развитии иммуно- и неиммуноопосредованных нефропатий.

Цель настоящего обзора – анализ роли различных молекулярных механизмов реализации апоптоза (p53, PUMA, Mdm 2 и p21) в патогенезе иммунных и неиммунных нефропатий.

Апоптоз принимает участие в развитии нефропатий различной этиологии

Прогрессирование иммунных и неиммунных нефропатий характеризуется клеточной пролиферацией с накоплением внеклеточного матрикса и

Пак Л.Б. Кафедра факультетской терапии Тихоокеанского государственного медицинского университета. E-mail: lpak073@gmail.com

последующим развитием нефросклероза [4]. При этом компоненты матрикса повышают чувствительность мезангия к различным индукторам апоптоза [3]. Считается, что нарушение функции почек определяется не только степенью гломерулосклероза, но и выраженностью тубулоинтерстициальных нарушений [4]. Гибель клеток канальцевого эпителия, наряду с некрозом, может происходить и путем апоптоза, который в ряде случаев является важной причиной развития острого повреждения почек [3–5].

Следует отметить, что различные заболевания почек сопровождаются специфическими особенностями запрограммированной клеточной смерти. Так, при большинстве различных морфологических вариантов гломерулонефрита отмечается ингибция апоптоза [3, 4]. В свою очередь, гломерулосклероз, кортикальный некроз, обструктивные нефропатии, рефлюкс-нефропатии, гидронефроз, поликистоз, интерстициальный нефрит (в том числе циклоспориновая нефропатия), посттрансплантационное острое повреждение почек сопровождаются его активацией [6, 7].

В здоровых почках взрослого человека ежедневно подвергается апоптозу около 3% гломерулярных клеток [4]. При пролиферативных вариантах гломерулонефрита интенсивность апоптоза клеток клубочка достоверно коррелирует с их общим числом [4, 7]. Показано, что при мезангиопротеративном гломерулонефрите выраженность апоптоза взаимосвязана с интенсивностью протеинурии [8]. Что касается люпус-нефрита, то обнаружена взаимосвязь между интенсивностью апоптоза и индексом хронизации [7, 9, 10].

Ряд исследователей указывают на рост числа клеток, подвергающихся апоптозу при гломерулопатиях по мере прогрессирования гломерулосклероза, в том числе при люпус-нефрите и IgA-нефропатии [6, 11, 12]. Антипролиферативный эффект может быть достигнут индукцией остановки клеточного цикла, сопровождающегося апоптозом, через активацию p53, p21 и Bax-молекул, но не механизма, основанного на передаче «смертельного» сигнала через систему Fas-рецептор – Fas-лиганд. В то же время, при различных вариантах гломерулопатий выявлена активация экспрессии лиганда рецептора Fas и антиапоптотического белка Bcl-2 [2, 13]. Показано, что гиперэкспрессия Bcl-2 ассоциирована с избыточной пролиферацией мезангиоцитов при гломерулонефрите [4, 5].

Некоторые авторы считают актуальным исследование роли малых RasGTPas-молекул (Ras-proteinguanosine triphosphate) в механизмах

развития почечного фиброза. Установлено, что RasGTPas-молекулы управляют пролиферацией клеток, их дифференцировкой и апоптозом. Разные изоформы Ras играют разную роль в регуляции внеклеточного синтеза матрикса фибробластами и клетками мезангия [14].

Определённый интерес представляет изучение вклада в развитие нефропатий отдельных белков, участвующих в тонких процессах регуляции апоптоза и старения клеток.

Молекула p53 – активный участник апоптоза почечных клеток

Белок p53 (молекулярная масса 53 кДа) является продуктом гена-супрессора опухоли TP53 и экспрессируется во всех клетках организма. Он играет роль транскрипционного фактора и активируется при накоплении повреждений ДНК. В результате экспрессии p53 происходит остановка клеточного цикла и репликации ДНК, а при сильном стрессовом сигнале – активация апоптоза.

Ключевая роль молекулы p53 в развитии апоптоза неоспорима [5, 7, 15, 16]. Первоначально повышенный интерес к белку p53 был обусловлен его исключительной особенностью препятствовать развитию новообразований [5, 7, 15, 17]. К настоящему времени выявлено множество функций этого белка, таких как регуляция продолжительности жизни, размножения, развития, метаболизма и многое другое [15, 16]. Более того, перечень функций p53 неуклонно растёт. В последние годы установлена роль нарушений функции гена-супрессора опухоли TP53 в развитии не только онкологических, но также и сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, метаболических заболеваний; обсуждается участие p53 в процессах старения организма [15]. Являясь фактором транскрипции, p53 действует за счет активации или подавления транскрипции как минимум 129 генов-мишеней [16].

Инактивация p53-протеина в опухолях человека, а также высокая частота развития новообразований у мышей с нокаутом гена TP53 – наиболее веские доказательства противоопухолевой функции этого гена [5, 13, 17]. Белок p53 активируется в ответ на различные стрессовые сигналы, которые свидетельствуют об уже произошедшем или возможном злокачественном перерождении клетки. Повреждение ДНК, гипоксия, активация онкогенов и репликативный стресс, потеря нормальных клеточных контактов – лишь некоторые из них [18, 19]. В соответствии с популярной теорией, молекула p53 «решает» судьбу клетки в зависимости от типа, величины и продолжительности стрессового сигнала [15]. При незначительной стимуляции

белок p53 временно останавливает клеточный цикл, увеличивает выработку антиоксидантов и запускает процесс репарации, давая клетке возможность восстановить ДНК и продолжить свою физиологическую программу, иными словами, осуществляет «профилактику» опухолей. В случае сильной и/или продолжительной стрессовой стимуляции, нерепарируемых повреждений ДНК или активации онкогенов белок p53 действует радикально, удаляя такую клетку путем апоптоза или навсегда останавливая ее жизненный цикл в процессе клеточного старения [19, 20].

Неудивительно, что большинство исследований и в канцерогенезе почек направлено на изучение роли молекулы p53 [21–24]. Потеря функции белка p53 – критический признак развития опухоли. Мутации этого гена, вплоть до его потери, встречаются в большинстве случаев злокачественных новообразований. Исключением является карцинома почки. Так, Н. Warburton и соавт. обнаружили MDM2/p14ARF-независимый механизм регуляции активности протеина p53 в клетках карциномы почечного эпителия, где мутации белка p53 редко встречаются [24]. По другим данным, экспрессия Bcl-2 коррелирует с благоприятным прогнозом, лучшей выживаемостью и соответствует начальной стадии почечно-клеточного рака [25]. Японские авторы предполагают наличие тесной связи между инфекцией HPV и экспрессией (мутацией) белка p53, что может играть определённую роль в развитии и прогрессировании почечной карциномы [26].

Оксид азота

Особая роль в регуляции процессов клеточной смерти принадлежит оксиду азота (NO). Оксид азота – бесцветный газ, молекулярная масса 30,0 г/моль. Синтез осуществляется семейством NO-синтаз (NOS). NOS-ферменты – члены гемсодержащего суперсемейства ферментов, названных монооксигеназами. В зависимости от структуры и функций NOS разделяются на три группы: эндотелиальные (eNOS), нейрональные (nNOS) и индуцибельные (iNOS).

Известно, что NO обладает провоспалительными свойствами и воздействует на иммунную систему [5, 19]. Результаты исследований ряда авторов свидетельствуют об участии NO в запрограммированной смерти клетки. Показано, что NO усиливает потенциал мембраны митохондрий и изменяет химическую структуру цитохрома C. Это ведёт к высвобождению цитохрома из митохондрий, что, в свою очередь, активирует каспазу-3, которая является основным эффектором апоптоза [27].

In vitro установлено разрушающее действие NO

на клеточную ДНК [28]. In vivo гистохимические исследования почек при IgA-нефропатии выявили значительное нарастание интенсивности апоптоза в клетках почечного эпителия, где была наиболее выражена экспрессия индуцибельной NO-синтазы (iNOS), что определяло отрицательный прогноз [28]. К тому же двойная индукция активности iNOS и молекулы p53 приводила к быстрому прогрессированию почечной недостаточности [28, 29].

Подчеркивается роль оксидативного стресса в развитии нефропатий, как правило, связанных с так называемыми экологическими причинами. В частности, показаны ассоциированные с ним нарастание экспрессии p53, p21, cyclin E и белков CDK2, нарушение клеточного цикла, хромосомные отклонения и геномная неустойчивость [30].

Имеются данные о значительном вкладе молекулы p53 в обеспечение апоптотической гибели клеток при феномене почечной ишемии–реперфузии, являющегося частой причиной развития острого повреждения почек и характеризующегося обширным повреждением тубулярного аппарата и микрососудов почек [31]. Так, кратковременное подавление активности белка p53 пифитрином-α (PFTα) – одним из малых ингибиторов p53 с радиопротективными свойствами – обеспечивало значительную защиту почек в мышинных моделях феномена почечной ишемии–реперфузии [32, 33]. Следовательно, активация молекулы p53 может способствовать повреждению почек при острой ишемии благодаря гипоксической индукции апоптоза.

В литературе описана цисплатин-индуцированная нефротоксичность, определяемая активностью белка p53, о чем свидетельствует её отсутствие у p53-дефицитных мышей [34–36]. Цисплатин-индуцированный апоптоз не развивался при введении PFTα как в условиях in vitro, так и in vivo. Этот защитный эффект PFTα сопровождался ингибированием экспрессии проапоптотических генов [37, 38]. Подобным образом подавляется и пуромицинаминонуклеозид – индуцированный апоптоз подоцитов [39]. Другие авторы изучали влияние правастатина на цисплатин-индуцированное повреждение почек [40]. Они показали, что правастатин смягчает это повреждение, подавляя в почках синтез малонового диальдегида – маркера перекисного окисления липидов, тем самым снижая активность белка p53.

Подобного рода исследования свидетельствуют о том, что ингибиторы активности белка p53 могут уменьшить тяжесть p53-опосредованных патологических процессов. Тем самым подчеркивается

практическая значимость понимания роли p53-молекулы и определяются возможности новых терапевтических стратегий при заболеваниях почек.

Молекула PUMA

Белок PUMA (p53 upregulated modulator of apoptosis) индуцируется во многих типах клеток за счет активации p53-молекулы, развивающейся в ответ на повреждение генома [5, 7, 15, 16]. Подобно большинству других ВНЗ-белков, изоформы PUMA связывают Bcl-2-подобные белки (антагонисты апоптоза), локализованные в митохондриях, способствуя высвобождению цитохрома C и реализации быстрой клеточной гибели. Этот феномен описан как митохондриальный путь апоптоза, осуществляемый путем не прямой нейтрализации антиапоптотических эффектов молекул Bax и/или Bak-белков семейства Bcl-2 [7, 16].

Факторы, изменяющие окислительно-восстановительный гомеостаз в клетках, как, например, гипоксия и окислительный стресс, способны стимулировать экспрессию PUMA как *in vitro*, так и *in vivo* [5]. Известно, что окислительное повреждение ДНК при гидронефрозе может вызывать p53-зависимый апоптоз через репрессию APE (ДНК-репарирующая эндонуклеаза) [6].

Нефротоксическое действие цисплатина, широко используемого в терапии опухолей, сопровождалось повышенной экспрессией молекул PUMA и p53 в клетках почек, вызывая их острое повреждение [37, 41]. Возможно, ингибирование p53 и PUMA-белков может иметь значение для профилактики и лечения цисплатин-индуцированного острого повреждения почек. Это подтверждается исследованиями на мышиных моделях ингибирующего эффекта PFT α на цисплатин-индуцированную регуляцию белка PUMA в клетках почечных канальцев [38].

Данные о действии ресвератрола, SIRT₁-активатора (sirtuin 1-NAD-depend ent protein deacetylase) свидетельствуют о снижении активности цисплатин-индуцированного апоптоза за счет деацетилирования белка p53, подавления активности Bcl-XL и PUMA молекул в клетках проксимальных канальцев почек при одновременном повышении скорости клубочковой фильтрации [41, 42]. Эти результаты показывают, что модуляция функций PUMA и белков p53 с помощью молекулы SIRT₁ может ослабить цисплатин-индуцированное повреждение почек.

Данные других исследований указывают на то, что ресвератрол, обладающий химиопрофилактическими свойствами против некоторых видов опухолей и сердечно-сосудистых заболеваний, ока-

зывает положительное влияние на продолжительность жизни, уровень липидов, а также обладает профилактическими свойствами при некоторых вирусных инфекциях [43]. Ресвератрол способен индуцировать апоптоз благодаря усилению экспрессии Bax, Bak, PUMA, Noxa, Bim, p53, TRAIL, TRAIL-R1/DR4 и TRAIL-R2/DR5 молекул с одновременным снижением экспрессии Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1-молекул и сурвивина [38, 43]. Ресвератрол стимулирует экспрессию ингибиторов CDK p21/WAF1/CIP1 и p27/KIP1, усиливает проапоптотический эффект цитокинов, химиотерапевтических препаратов и гамма-излучения и, таким образом, вызывает остановку клеточного цикла на G₁- и G₁/S-фазах при поражении печени и почек [41, 43].

В силу того, что геномная нестабильность является отличительной чертой канцерогенеза, логичным является изучение механизмов ее развития. Гибель клеток может быть связана с гипоксией, индуцирующей высокую активность проапоптотического белка PUMA. В результате, *in vivo* показано, что даже в клетках, в которых функция белка p53 была нарушена, апоптоз являлся важным ответом на гипоксию и ишемию опухоли, а блокада этой реакции позволяла выживать клеткам с аномальным геномом и способствовала активизации канцерогенеза [44].

В то же время делеция у мышей гена PUMA не сопровождалась повышением частоты образования опухолей [44]. Это может быть связано с тем, что мутантный ген TP53, лишенный способности вызывать апоптоз, но способный вызывать остановку клеточного цикла, хорошо защищает мышей от развития опухолей [21]. Результаты этих исследований ясно указывают на существование дополнительных p53-зависимых механизмов, вносящих вклад в противоопухолевую защиту.

Таким образом, достаточно хорошо показано, что белок PUMA может активироваться в ответ на гипоксию и ишемию почек в различных типах клеток, определяя канцерогенез и нефротоксичность. Однако работ по изучению его роли в развитии гломерулопатий нет, что определяет актуальность научных изысканий в данном направлении.

Молекула Mdm 2

Mdm2 (murine double minute-2) – онкоген-кодируемый клеточный фосфопротеин, с молекулярной массой 90 кДа, связывается с p53 и, таким образом, блокирует p53-опосредованную трансактивацию. С учетом вышеизложенного становится понятным участие в развитии нефропатий основного антагониста белка p53 молекулы Mdm 2. Процесс разрушения молекулы p53 в системе 26S-протеасом

инициируется несколькими убиквитиновыми лигазами типа E3 [16]. Наиболее изученной среди них является убиквитиновая лигаза Mdm2, которая сама является продуктом гена, активируемого белком p53. Установлено участие и других убиквитин-лигаз типа E3 (Cop1, Pirh2, ARF-BP/MULE, CHIP) в регуляции количества белка p53, причем две из них (Cop1 и Pirh2), подобно белку Mdm2, выступают в качестве транскрипционных мишеней и, таким образом, вместе с p53 образуют обратные регуляторные связи [7].

Важным компонентом регуляции активности Mdm2-белка служит близкородственный белок MdmX, который имеет сходное строение, но в отличие от Mdm2 не обладает E3-убиквитин-лигазной активностью [16]. Белок MdmX связывается с N-концевой областью p53-молекулы, подавляет её транскрипционную активность, но не вызывает разрушения. Он также способен гетеро-олигомеризоваться с Mdm2-белком, что, с одной стороны, приводит к стабилизации молекулы Mdm2, а с другой – к ускорению разрушения MdmX. Таким образом, количество и активность белка p53 определяется соотношением Mdm2 и MdmX.

Важным регулятором Mdm2-зависимого разрушения p53-молекулы выступает белок ARF (alternate reading frame) – продукт альтернативной трансляции гена CDKN2A, который также кодирует ингибитор циклин-зависимую киназу (белок p16) [7]. ARF обладает свойствами опухолевого супрессора, и его отсутствие приводит к фенотипу, напоминающему отсутствие белка p53. Связываясь с Mdm2-молекулой, ARF подавляет её убиквитин-лигазную активность и вызывает активацию белка p53, тем самым повышая чувствительность клеток к апоптозу.

Ген MDM2 функционирует в значительном количестве человеческих сарком и в этих клетках сохраняются аллели p53 дикого типа, что позволяет предположить, что MDM2 может действовать путем нейтрализации функций p53 в процессе онкогенеза. Хотя гиперэкспрессия MDM2 была зарегистрирована примерно при различных видах опухолей человека. В ряде исследований изучали причастности данной молекулы к развитию рака почек и мочевыводящих путей [45–47].

Данные анализа экспрессии белков p53 и MDM2 при карциноме почечного эпителия показали преобладание активности молекулы p53, тогда как экспрессия MDM2 определялась более часто при высокодифференцированных опухолях. К тому же, гиперэкспрессия MDM2/p53 являлась

предиктором плохого прогноза [46]. В результате исследования транскрипционной активности p53 в панели почечно-клеточного рака и вклада MDM2 и p14 ARF в регуляцию активности p53-молекулы, обнаружено, что эта деятельность в значительной степени регулируется MDM2 и в меньшей степени p14 ARF [24]. Еще одна гипотеза неудач в лечении почечно-клеточной карциномы базируется на взаимодействии между MDM2-молекулой и NME2 (non-metastatic cells 2)-белком. MDM2-белок, супрессируя NME2, приводит к потере подвижности клетки и, таким образом, подавляет развитие метастатического процесса [48].

Другие данные свидетельствуют о том, что в случае переходной клеточной карциномы одновременная оценка активности p53- и MDM2-белков может являться значимым предиктором опухолевой пролиферации и прогноза [49, 50]. Получены данные о действии антагонистов MDM2-молекул Nutlin-3a и MI 219 в фазе G2/M клеточного цикла [5, 7]. Они вызвали значимый некроз клеток аденокарциномы предстательной железы, не влияя на ближайшие эпителиальные клетки [50].

В исследовании потенциальных механизмов развития волчаночного нефрита выявлена выраженная экспрессия и активация MDM2-белка в селезенке и почках мышей с экспериментальной моделью волчанки (линия MRL-фас (lpr)) [3, 4]. Лечение этих мышей Nutlin-3a, являющимся ингибитором Mdm2-молекулы, предотвратило развитие нефрита и сопровождалось увеличением длительности жизни. Индукция активности MDM2-белка способствовала пролиферации плазматических клеток и CD₃(+), CD₄(-), CD₈(-) Т-клеток, продуцирующих антитела [7]. Подавление же активности MDM2-белка привело к уменьшению признаков системного воспаления, демонстрируя перспективу подобного терапевтического подхода к лечению волчаночного нефрита [51].

Следовательно, белок MDM2 находится в тесной антагонистической связи с молекулой p53 и принимает активное участие в развитии нефропатий. Однако работы, посвященные изучению его роли в патогенезе гломерулопатий, являются единичными.

P21-протеин

P21(cyclin-dependent kinase inhibitor 1A) – внутриклеточный белок-ингибитор циклин-зависимой киназы с молекулярной массой 21 кДа. P21 протеин является маркером репликативного старения клеток.

Как уже было сказано выше, наряду с индукцией апоптоза, белок p53 может останавливать деление

клеток, влияя на динамику клеточного цикла [15, 16]. Ингибитор циклин-зависимых киназ CDK2/4 белок p21 (продукт гена CDKN1A) был первой идентифицированной транскрипционной мишенью молекулы p53 [15].

Повышение активности белка p21 происходит даже при незначительных колебаниях активности молекулы p53, что приводит к кратковременной остановке клеточного цикла в поздней фазе G1, до начала синтеза ДНК [15]. Задержка клеток в фазе G1 важна для поддержания целостности генома, поскольку она предотвращает репликацию поврежденной ДНК. Задержка клеточного цикла в фазе G1 определяется тем, что белок p21 блокирует активность CDK2 и CDK4 циклин-зависимых киназ, тем самым предотвращая фосфорилирование pRb (retinoblastoma protein) и запуск транскрипции таких генов, как CyclinK, hCDC4, p53RFP, а также комплекса генов, ответственных за синтез ДНК [7]. Задержка клеточного цикла, опосредованная p21-белком, позволяет клетке устранить незначительные повреждения, после чего уровень белка p53 возвращается к норме и клетка вновь может совершать деления [16].

В некоторых клеточных системах, даже в ответ на значительные повреждения ДНК-клетка подвергается не апоптозу, а необратимо прекращает деление [5]. Состояние необратимой остановки клеточного цикла трактуется как форма клеточного старения (senescence) [15]. Это состояние иногда называют репликативным старением [7, 15]. P53-зависимое репликативное старение играет определяющую роль в супрессии карцином и сарком при фармакологической реактивации белка p53 или при введении дикого типа белка p53 с помощью вирусных векторов [15, 26, 52].

Заметную роль в развитии репликативного старения играет длительная индукция p53-зависимого синтеза белка p21, причём сходный эффект наблюдается даже в p53-негативных клетках при искусственной стимуляции синтеза белка p21 [7, 15]. Свой вклад в установлении p53-зависимого репликативного старения клеток вносят и другие p53-регулируемые гены, в том числе ген PAI-1 (plasminogen activator inhibitor type 1), однако роль белка p21 в этом процессе доминирует [7, 53]. На это указывают опыты с мышами, имеющими дефектный по апоптозной функции мутант p53, который, тем не менее, способен индуцировать синтез белка p21. Такой мутант хорошо защищает мышей от образования опухолей, в строгой зависимости от уровня активности белка p21. Тем не менее, сама по себе делеция гена p21 у мышей

не приводит к заметному повышению частоты опухолей [11, 54].

В других работах изучался non-ras 21-кДа протеин, как индикатора контроля лечения злокачественных опухолей. При этом благоприятный ответ четко коррелировал со снижением в сыворотке количества p21, тогда как увеличенные или постоянно высокие уровни p21-протеина после лечения свидетельствовали о наличии метастазов [55]. Некоторые авторы рассматривают p21-активированную киназу 1 (Pak1) как потенциальную мишень для лечения карциномы клеток почечного эпителия, невосприимчивую к химио- и радиотерапии [56].

Малые двухцепочечные РНК (dsRNA) являются новым классом молекул, которые регулируют экспрессию гена. Накопленные данные предполагают, что некоторые dsRNA могут функционировать как супрессоры роста опухоли благодаря индукции синтеза белка p21 [57].

В ряде работ показано, что удаление гена-ингибитора циклин-зависимой киназы p21(WAF1/CIP1) у мышей с частичной нефрэктомией тормозит прогрессирование хронической болезни почек. Авторы приходят к выводу, что управление активностью молекулы p21 может способствовать уменьшению или даже предотвращению прогрессирования почечной недостаточности [58].

Согласно некоторым исследованиям, протеин p21 играет определённую роль в развитии острого повреждения почек [59, 60]. Так, в трех различных моделях острого повреждения почек (ишемия, обструкция мочеточников и токсическое действие цисплатина) ген p21WAF1/CIP1/SDI1, белок которого связан с остановкой клеточного цикла, дифференцировкой клеток и клеточным старением, был активирован в клетках почки крысы. Авторы продемонстрировали защитную функцию ингибитора циклин-зависимой киназы p21, вероятно, помогающего скоординировать деятельность клеточного цикла таким образом, чтобы оптимизировать восстановление почечных эпителиальных клеток после острого повреждения и уменьшить степень самого повреждения [58, 60, 61].

Другие исследования показали, что mTERT (mouse telomerase reverse transcriptase) и белок p21 могут быть новыми маркерами определения длительности ишемического интервала при почечной ишемии – реперфузии [33]. Так, mTERT был значительно активирован в почках после короткого периода ишемии (до 20 мин), а экспрессия p21 наблюдалась после длительного (более 30 мин) ишемического интервала. Выявленная динамика может иметь большое значение для прогнозирования развития острого повреждения почек.

В серии работ у p21-дефицитных мышей идентифицированы прогрессирующая подоцитопения с капиллярным некрозом, сопровождающаяся гиперплазией париетальных эпителиальных клеток и приводящая к фокально-сегментарному гломерулосклерозу [29, 62].

Ингибитор циклин-зависимой киназы белок p21 затрагивает многие процессы, относящиеся к иммунной системе. Изменения активности этого белка могут быть причиной прогрессии системного аутоиммунного процесса. Так дефицит, p21-белка значительно усиливает Т-клеточную активацию, приводя к развитию волчаночноподобной нефропатии [63]. Изучение генов p53-исполнительного элемента Gadd45a и p21 в эксперименте показало, что их недостаточная активность резко ускоряет развитие аутоиммунного процесса с появлением высокого титра антител к дву- и односпиральной ДНК, гистону, а также с тяжелыми гематологическими расстройствами, аутоиммунным гломеруло-нефритом и преждевременной смертью особей [10].

В одной из работ приводятся данные о наличии корреляции между ускоренным старением эпителиальных клеток почечных канальцев и развитием IgA-нефропатии [11].

Еще один аспект возможного влияния молекулы p21 на патологический процесс – диабетическая нефропатия, при которой ключевым моментом ранних стадий является гипертрофия мезангиальных клеток. Высокий уровень глюкозы, трансформирующего фактора роста-бета (TGF-бета), ангиотензина-II, и, возможно, других факторов, индуцируя ингибиторы циклин-зависимых киназ (CDK), включая p21Cip1 и p27Kip1, приводит к остановке G1-фазы клеточного цикла в мезангиальных клетках. Применение ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента на этом этапе уменьшает клубочковую гипертрофию и снижает экспрессию ингибиторов CDK (p21Cip1 и p27Kip1), что свидетельствует о том, что на остановку клеточного цикла можно терапевтически влиять [64, 65].

Резюмируя вышеизложенное, можно констатировать, что вклад апоптоза в реализацию различных форм патологии почек находится еще в процессе осмысления, хотя уже сейчас ясно, что в одних случаях он может быть ключевым, а в других – определяет тот патологический фон, на котором разворачиваются специфические процессы. Дальнейшие исследования в области патофизиологии запрограммированной гибели клеток открывают большие перспективы для разработки инновационных подходов в предупреждении, прогнозировании и лечении многих патологических процессов в почках.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Томилина НА, Бикбов БТ. Эпидемиология хронической почечной недостаточности и новые подходы к классификации и оценке тяжести хронических прогрессирующих заболеваний почек. *Тер арх* 2005; (6): 87-89
2. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Каюков ИГ, Есаян АМ. Хроническая болезнь почек: дальнейшее развитие концепции и классификации. *Нефрология* 2007; (4): 7-17
3. Цаликова ФД. Апоптоз в патогенезе нефропатий. *Нефрология и диализ* 1999; (3): 127-130
4. Savill J. Apoptosis and the Kidney. *J Am Soc Nephrol* 1994; (5): 12-21
5. Ярилин АА. Апоптоз: природа феномена и его роль в норме и при патологии. В: *Актуальные проблемы патофизиологии*. Мороз Б.Б., ред. Медицина, М., 2001; 13-56
6. Chang IY, Kim JN, Jun JY et al. Repression of apurinic/apyrimidinic endonuclease by p53-dependent apoptosis in hydronephrosis-induced rat kidney. *Free Radic Res* 2011; 45 (6): 728-34
7. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-257
8. Shankland SJ, Hugo C, Coats SR et al. Changes in cell-cycle protein expression during experimental mesangial proliferative glomerulonephritis. *Kidney Int* 1996; 50 (4): 1230-9
9. Onel KB, Huo D, Hastings D et al. Lack of association of the TP53 Arg72Pro SNP and the MDM2 SNP309 with systemic lupus erythematosus in Caucasian, African American, and Asian children and adults. *Lupus* 2009; 18 (1): 61-6
10. Salvador JM, Hollander MC, Nguyen AT et al. Mice lacking the p53-effector gene Gadd45a develop a lupus-like syndrome. *Immunity* 2002; 16 (4): 499-508
11. Liu J, Yang JR, He YN et al. Accelerated senescence of renal tubular epithelial cells is associated with disease progression of patients with immunoglobulin A (IgA) nephropathy. *Transl Res* 2012; 159 (6): 454-63
12. Wang JS, Tseng HH, Shih DF et al. Expression of inducible nitric oxide synthase and apoptosis in human lupus nephritis. *Nephron* 1997; 77 (4): 404-11
13. Cho DS, Joo HJ, Oh DK, Kang JH, Kim YS, Lee KB, Kim SJ. Cyclooxygenase-2 and p53 expression as prognostic indicators in conventional renal cell carcinoma. *Yonsei Med J* 2005; 46 (1): 133-40
14. Martínez-Salgado C, Rodríguez-Peña AB, López-Novoa JM. Involvement of small RasGTPases and their effectors in chronic renal disease. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65 (3): 477-92
15. Вильгельм АЭ, Заика АИ, Прасолов ВС. Координированное взаимодействие мультифункциональных членов семейства p53 влияет на важнейшие процессы в многоклеточных организмах. *Молекулярная биология* 2011; 45 (1): 180-197
16. Чумаков ПМ. Белок p53 и его универсальные функции в многоклеточном организме. *Успехи биологической химии* 2007; (47): 3-52
17. Govender D, Harilal P, Hadley GP, Chetty R. p53 protein expression in nephroblastomas: a predictor of poor prognosis. *Br J Cancer* 1998; 77 (2): 314-8
18. Naesens M. Replicative senescence in kidney aging, renal disease, and renal transplantation. *Discov Med* 2011; 11 (56): 65-75
19. Vousden KH, Prives C. 2009. Blinded by the light: the growing complexity of p53. *Cell* 137, 413-431
20. Uzzo RG, Rayman P, Kolenko V, et al. Mechanisms of apoptosis in T cells from patients with renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999; 5 (5): 1219-29
21. Kucab JE, Phillips DH, Arlt VM. Linking environmental carcinogen exposure to TP53 mutations in human tumours using the human TP53 knock-in (Hupki) mouse model. *FEBS J* 2010; 277 (12): 2567-83
22. Pedersen AE, Stryhn A, Justesen S et al. Wild type p53-specific antibody and T-cell responses in cancer patients. *J Immunother* 2011 Nov-Dec; 34 (9): 629-40
23. Van den Berg L, Segun AD, Mersch S et al. Regulation of

- p53 isoform expression in renal cell carcinoma. *Front Biosci* (Elite Ed) 2010; 2 : 1042-53
24. Warburton HE, Brady M, Vlatković N et al. p53 regulation and function in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 2005; 65 (15): 6498-503
 25. Itoi T, Yamana K, Bilim V et al. Impact of frequent Bcl-2 expression on better prognosis in renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer* 2004; 90 (1): 200-5
 26. Kuwahara M, Fujisaki N, Kagawa S et al. Determination of p53 protein and high-risk human papillomavirus DNA in carcinomas of the renal pelvis and ureter. *Int J Mol Med* 1998; 1 (4): 703-7
 27. Vaseva AV, Moll UM. The mitochondrial p53 pathway. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1787 (5): 414-20
 28. Qiu LQ, Sinniah R, Hsu SI. Coupled induction of iNOS and p53 upregulation in renal resident cells may be linked with apoptotic activity in the pathogenesis of progressive IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 (8): 2066-78
 29. Suzuki T, Matsusaka T, Nakayama M et al. Genetic podocyte lineage reveals progressive podocytopenia with parietal cell hyperplasia in a murine model of cellular/collapsing focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Pathol* 2009; 174 (5): 1675-82
 30. Mishra PK, Raghuram GV, Panwar H et al. Mitochondrial oxidative stress elicits chromosomal instability after exposure to isocyanates in human kidney epithelial cells. *Free Radic Res* 2009; 43 (8): 718-28
 31. McLaren BK, Zhang PL, Herrera GA. P53 protein is a reliable marker in identification of renal tubular injury. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2004; 12 (3): 225-229
 32. Dagher PC, Mai EM, Hato T et al. The p53 inhibitor pifithrin- α can stimulate fibrosis in a rat model of ischemic acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012; 302 (2): F284-91
 33. Hochegger K, Koppelstaetter C, Tagwerker A et al. p21 and mTERT are novel markers for determining different ischemic time periods in renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292 (2): F762-8
 34. Bhatt K, Zhou L, Mi QS et al. MicroRNA-34a is induced via p53 during cisplatin nephrotoxicity and contributes to cell survival. *Mol Med* 2010; 16 (9-10): 409-16
 35. Wang J, Biju MP, Wang MH et al. Cytoprotective effects of hypoxia against cisplatin-induced tubular cell apoptosis: involvement of mitochondrial inhibition and p53 suppression. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (7): 1875-85
 36. Wei Q, Dong G, Yang T et al. Activation and involvement of p53 in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293 (4): F1282-91
 37. Jiang M, Wei Q, Wang J et al. Regulation of PUMA- α by p53 in cisplatin-induced renal cell apoptosis. *Oncogene* 2006; 25 (29): 4056-66
 38. Kindt N, Menziesbach A, Van de Wouwer M et al. Protective role of the inhibitor of apoptosis protein, survivin, in toxin-induced acute renal failure. *FASEB J* 2008; 22 (2): 510-21
 39. Rincon J, Romero M, Viera N et al. Increased oxidative stress and apoptosis in acute puromycinaminonucleoside nephrosis. *Int J Exp Pathol* 2004; 85 (1): 25-33
 40. Fujieda M, Morita T, Naruse K et al. Effect of pravastatin on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Hum Exp Toxicol* 2011; 30 (7): 603-15
 41. Kim DH, Jung YJ, Lee JE et al. SIRT1 activation by resveratrol ameliorates cisplatin-induced renal injury through deacetylation of p53. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301 (2): F427-35
 42. Kume S, Haneda M, Kanasaki K et al. Silent information regulator 2 (SIRT1) attenuates oxidative stress-induced mesangial cell apoptosis via p53 deacetylation. *Free Radic Biol Med* 2006; 40 (12): 2175-82
 43. Shankar S, Singh G, Srivastava RK. Chemoprevention by resveratrol: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front Biosci* 2007; 12: 4839-54
 44. Nelson DA, Tan TT, Rabson AB et al. Hypoxia and defective apoptosis drive genomic instability and tumorigenesis. *Genes Dev* 2004; 18 (17): 2095-107
 45. Noon AP, Vlatković N, Polański R et al. p53 and MDM2 in renal cell carcinoma: biomarkers for disease progression and future therapeutic targets? *Cancer* 2010; 116 (4): 780-90
 46. Haitel A, Wiener HG, Baethge U et al. MDM2 expression as a prognostic indicator in clear cell renal cell carcinoma: comparison with p53 overexpression and clinicopathological parameters. *Clin Cancer Res* 2000; 6 (5): 1840-4
 47. Moch H, Sauter G, Gasser TC et al. p53 protein expression but not mdm-2 protein expression is associated with rapid tumor cell proliferation and prognosis in renal cell carcinoma. *Urol Res* 1997; 25 Suppl 1 : S25-30
 48. Polanski R, Maguire M, Nield PC et al. MDM2 interacts with NME2 (non-metastatic cells 2, protein) and suppresses the ability of NME2 to negatively regulate cell motility. *Carcinogenesis* 2011; 32 (8): 1133-42
 49. Hashimoto H, Sue Y, Saga Y et al. Roles of p53 and MDM2 in tumor proliferation and determination of the prognosis of transitional cell carcinoma of the renal pelvis and ureter. *Int J Urol* 2000; 7 (12): 457-63
 50. Tsao CC, Corn PG. MDM-2 antagonists induce p53-dependent cell cycle arrest but not cell death in renal cancer cell lines. *Cancer Biol Ther* 2011; 10 (12): 1315-25
 51. Allam R, Sayyed S G, Kulkarni OP et al. Mdm2 promotes systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22 (11): 2016-27
 52. Niwa T, Shimizu H. Indoxyl sulfate induces nephrovascular senescence. *J Ren Nutr* 2012; 22 (1): 102-6
 53. Samarakoon R, Overstreet JM, Higgins SP, Higgins PJ. TGF- β 1 $\rightarrow$ SMAD/p53/USF2 $\rightarrow$ PAI-1 transcriptional axis in ureteral obstruction-induced renal fibrosis. *Cell Tissue Res* 2012; 347 (1): 117-28
 54. Willenbring H, Sharma AD, Vogel A et al. Loss of p21 permits carcinogenesis from chronically damaged liver and kidney epithelial cells despite unchecked apoptosis. *Cancer Cell* 2008; 14 (1): 59-67
 55. Shalitin C, Epelbaum R, Moskovitz B et al. Increased levels of a 21-kDa protein in the circulation of tumor-bearing patients. *Cancer Detect Prev* 1994; 18 (5): 357-65
 56. O'Sullivan GC, Tangney M, Casey G et al. Modulation of p21-activated kinase 1 alters the behavior of renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2007; 121 (9): 1930-40
 57. Whitson JM, Noonan EJ, Pookot D et al. Double stranded-RNA-mediated activation of P21 gene induced apoptosis and cell cycle arrest in renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2009; 125 (2): 446-52
 58. Megyesi J, Price PM, Tamayo E et al. The lack of a functional p21(WAF1/CIP1) gene ameliorates progression to chronic renal failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96 (19): 10830-5
 59. Hochegger K, Koppelstaetter-Megyesi J, Udvarhelyi N et al. The p53-independent activation of transcription of p21 WAF1/CIP1/SDI1 after acute renal failure. *Am J Physiol* 1996; 271 (6 Pt 2): F1211-6
 60. Megyesi J, Andrade L, Vieira JM et al. Positive effect of the induction of p21WAF1/CIP1 on the course of ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2001; 60 (6): 2164-72
 61. Megyesi J, Andrade L, Vieira JM et al. Coordination of the cell cycle is an important determinant of the syndrome of acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283 (4): F810-6
 62. Srivastava T, Garola RE, Singh HK. Cell-cycle regulatory proteins in the podocyte in collapsing glomerulopathy in children. *Kidney Int* 2006; 70 (3): 529-35
 63. Balomenos D, Martin-Caballero J, García MI et al. The cell cycle inhibitor p21 controls T-cell proliferation and sex-linked lupus development. *Nat Med* 2000; 6 (2): 171-6
 64. Wolf G. Cell cycle regulation in diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 2000; 77: S59-66
 65. Wolf G, Fan YP, Weiss RH. Exogenous attenuation of p21(Waf1/Cip1) decreases mesangial cell hypertrophy as a result of hyperglycemia and IGF-1. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 (3): 575-84

Поступила в редакцию 18.03.2013 г.
Принята в печать 02.07.2013 г.