

© Э.Ф.Баринов, О.Н.Сулаева, М.М.Лам, 2006
УДК 577.152.1:611.61

Э.Ф. Баринов, О.Н. Сулаева, М.М. Лам

МЕТАБОЛИТЫ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ – ДЕТЕРМИНАНТЫ ПАРЕНХИМАТОЗНО-СТРОМАЛЬНЫХ ОТНОШЕНИЙ В ПОЧКАХ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

E.F. Barinov, O.N. Sulaeva, M.M. Lam

METABOLITES OF ARACHIDONIC ACID – DETERMINANTS OF PARENCHYMA-STROMA RELATIONS IN THE KIDNEYS IN HEALTH AND DISEASE

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии Донецкого государственного медицинского университета им. М. Горького, г. Донецк, Украина

Ключевые слова: почка, метаболиты арахидоновой кислоты.

Key words: kidney, metabolites of arachidonic acid.

Производные арахидоновой кислоты широко известны в амплуа медиаторов воспаления. Кроме того, ряд из них (простаноиды) играет важную роль в определении локальных механизмов поддержания гомеостаза. Последнее утверждение особенно актуально в почке, являющейся главным местом синтеза продуктов циклооксигеназного пути метаболизма арахидоновой кислоты (АК) [1]. Простаноиды играют важную роль в детерминации структурно-функционального состояния структур почки как в базальных условиях и реализации адаптационных реакций в органе, так и в патогенезе развития нефропатий, индуцированных экстраренальными факторами (шок, токсемия, ишемия, синдром системного ответа на воспаление) [2, 3]. Кроме того, за последние годы появились новые факты относительно спектра продуктов метаболизма АК и роли ее минорных производных в определении индивидуальности сегментов нефронов, а также сведения об экспрессии липоксигеназных продуктов и рецепторов к ним в структурах органа [4, 5]. При этом накопленный фактический материал порой противоречив и неоднозначен, и на данный момент нет ясной системы представлений о пространственной организации и механизмах работы широкой сети эйкозаноид-продуцирующих структур в почке. В связи с этим целью данного обзора стало обобщение и анализ современной информации относительно локализации, механизмов регуляции продукции эйкозаноидов и их роли в реализации адаптационных, компенсаторно-приспособительных процессов в почке, а также в нарушении функционирования органа и развитии хронической нефропатии.

ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА ЭЙКОЗАНОИДОВ

Общим предшественником синтеза эйкозаноидов является АК, присутствующая в мембранах клетки в эстерифицированной форме [6]. Ее освобождение из фосфолипидов мембран является одним из ключевых скорость-лимитирующих процессов, определяющих многоступенчатый синтез разных эйкозаноидов, и осуществляется при стимуляции ключевых ферментов: фосфолипазы С и А₂ (ФЛС и ФЛА₂). Важным условием освобождения АК является рецептор-опосредованный транспорт в клетку кальция, вызывающий транслокацию ФЛА₂ в клеточную мембрану [7]. Существует несколько изоформ фермента ФЛА₂, варьирующих по молекулярной массе и своей зависимости или независимости от Ca²⁺. Активность ФЛА₂ повышается под действием ФЛА₂-активирующего фермента, стимулируемого рядом цитокинов, включая ФНОα, ИЛ-1 и пр. [1, 6]. Существует также секреторная форма ФЛА₂, изначально описанная в тучных клетках, которая также вовлекается в освобождение АК в других (окружающих) клетках. Аналогичной системой обладают мезангиальные клетки сосудистых клубочков [8], способные запускать каскад провоспалительных событий за счет массивного освобождения АК в межклеточную среду [9].

Мощными стимуляторами, активирующими каскад АК, являются окислительный стресс, провоспалительные цитокины, ангиотензин II (Анг II), эндотелин 1, фактор активации тромбоцитов (ФАТ), брадикинин и пр. [6]. Однако спектр метаболитов АК широк, и выборочная продукция того или ино-

го продукта зависит от преимущественной экспрессии ферментов разных ветвей арахидонового каскада. В отличие от других биологически активных молекул, эйкозаноиды не накапливаются, а синтезируются по мере необходимости. В связи с этим каскад АК представляет собой многокомпонентную гибкую и динамичную систему медиаторов, работа которой определяется спектром клеточной экспрессии ферментов метаболизма АК, внутриклеточных мессенджерных систем, ответственных за активность того или иного пути метаболизма арахидоната, а в ряде случаев – эффективностью межклеточных коопераций.

Ключевыми ферментами, принимающими эстафету в каскаде продукции метаболитов АК, являются циклооксигеназы (ЦОГ), ответственные за образование простаноидов, и липоксигеназы (ЛЮГ), определяющие синтез лейкотриенов (ЛТ) [1]. Одним из ответвлений липоксигеназного пути является система синтеза липоксинов, чья роль в разрешении воспаления и патогенезе хронизации воспаления является предметом активных исследований и дискуссий [10]. Кроме того, как выяснилось, немаловажную роль в деятельности органа играют ферменты цитохром Р450 монооксигеназы и гидролазы, аббревиатурно обозначаемые как СYP 450, ответственные за образование двух видов продуктов эпоксиэйкозатриенов (ЭЭТ) и гидроксиейкозатетраенов (ГЭТЕ) [11]. При этом в разных популяциях клеток существует определенный динамический баланс между разными представителями ферментных систем метаболизма АК. Он модулируется извне гормонами, нейромедиаторами и цитокинами и не является константой, сдвигаясь в ту или иную сторону под действием ряда внешних факторов.

Таким образом, сеть эйкозаноидов в почке включает 4 вида метаболитов:

- 1) простаноиды (простагландины и тромбоксаны);
- 2) производные цитохромов: ЭЭТ и ГЭТЕ;
- 3) лейкотриены;
- 4) липоксины.

РЕНАЛЬНЫЕ ПРОСТАНОИДЫ

Простаноиды (простагландины – ПГ и тромбоксаны – ТХ) принимают участие в регуляции почечной гемодинамики, тубулярного транспорта ионов, а также секреции ренина, регулируя тем самым тубулогломерулярную обратную связь [4, 6, 12]. Но кроме того, они могут быть активными участниками воспаления при действии повреждающих факторов (ишемия, денервация, действие провоспалительных факторов, токсическое повреждение) [13, 14].

В почке экспрессируются две формы циклооксигеназы (ЦОГ) – конститутивная – ЦОГ-1 и инду-

цибельная – ЦОГ-2 [15]. Распределение ЦОГ-1 является довольно сходным в почках животных разных видов и человека. Максимальная экспрессия ЦОГ-1 зарегистрирована в клетках собирательных трубок (СТ) и ниже – в кровеносных сосудах органа [15]. Кроме того, выраженная экспрессия ЦОГ-1 зарегистрирована в интерстициальных клетках (ИКл) мозгового вещества почки, а также обнаружена в сосудистом клубочке (мезангиальные клетки и подоциты) [8, 9]. При этом внутренняя медулла является местом максимальной экспрессии циклооксигеназы в почках животных всех видов [1].

В отличие от ЦОГ-1 экспрессия ЦОГ-2 характеризуется видовой специфичностью и активируется при индукции NFκB [16, 17]. В почечной коре крыс, кроликов и собак данный фермент экспрессируют клетки плотного пятна и прилежащих к нему сегментов толстого восходящего отдела петли Генле (ТВОПГ) [14]. В отличие от них, у человека и обезьян максимальная экспрессия данного фермента в корковом веществе органа зарегистрирована в подоцитах и эндотелии гломерулярных сосудов [17]. В мозговом веществе почки экспрессия ЦОГ-2 ассоциирована с ИКл и в меньшей степени – с СТ [15, 16, 17]. ЦОГ-2 экспрессируется в почке в нормальных условиях, что свидетельствует в пользу ее физиологического значения. Что и не удивительно, учитывая локализацию данного фермента в плотном пятне. Последнее является частью юкстагломерулярного аппарата, контролирующего осуществление тубулогломерулярной обратной связи. Это определяет роль ЦОГ-2 в осуществлении саморегуляции нефрона и адаптации почки к меняющимся условиям гомеостаза [12, 18]. Из представленной выше информации видно, что зона почечного тельца является уникальной ввиду наличия экспрессии обеих изоформ ЦОГ, что, очевидно, свидетельствует о тесной ассоциации деятельности данной структуры с метаболизмом АК.

Роль простаноидов в определении структурно-функционального состояния почечных телец. В составе почечных телец ЦОГ-1 экспрессируют мезангиальные клетки и подоциты; ЦОГ-2 – клетки плотного пятна и подоциты. Подоциты и клетки плотного пятна являются продуцентами исключительно простагландина E2 (ПГЕ2), тогда как синтез простаноидов в мезангиальных клетках варьирует в зависимости от условий и набора регуляторов [6, 8]. Изучение ПГ-продуцирующей активности мезангиальных клеток показало, что в нормальных условиях они образуют лишь небольшое количество ПГЕ2, обладающего вазодилати-

рующим эффектом. Но инкубация этих клеток с ИЛ-1 или форсколином ведет к выраженной активации продукции ПГЕ2. Этот эффект усиливается при ингибировании малого G-белка Rho [19]. Изучение деталей позволило выяснить, что при отсутствии провоспалительных стимулов этот белок активирует конститутивную форму ФЛА2 и ПГЕ2-синтазы и генерирует низкое количество ПГЕ2. В присутствии провоспалительных цитокинов он потенцирует экспрессию секреторной ФЛА2-ПА и последующее интенсивное образование ПГЕ2. Кроме того, показано, что в условиях ишемии и последующей реперфузии в мезангиальных клетках происходит нарушение редокс-системы, следствием чего является увеличение образования ПГF2 α , обладающего вазоконстрикторным эффектом [20].

Мезангиальные клетки являются не только источником синтеза простаноидов, но и мишенью их действия. Так, на поверхности мезангиальных клеток обнаружена экспрессия рецепторов к простаглицлину (IP), образуемому эндотелиальными клетками гломерулярных капилляров [21], и ПГЕ2 (только EP1, 3, 4) [4]. Простаглицлин, повышая в клетках-мишенях уровень цАМФ, регулирующего протеинкиназную активность, может оказывать ингибирующее влияние на продукцию мезангиальными клетками метаболитов АК [21]. Кроме того, ПГЕ2 может активировать митотическую активность клеток и регулировать их секреторную активность. Но, повышая уровень цАМФ, ПГЕ2 по принципу отрицательной обратной связи снижает интенсивность освобождения АК [23].

Кроме того, состояние внутриклеточного метаболизма АК в сосудистом клубочке определяет чувствительность и эффективность реакции клетки на действие других регуляторов. Например, известно, что Анг II (прямо или опосредованно через продукцию TGF β) индуцирует синтетическую активность мезангиальных клеток через серин-треониновые киназы Akt и протеинкиназу PKB [13]. Механизм активации Akt/PKB частично обусловлен активацией G-белков. Этот эффект АнгII зависит от состояния метаболизма АК. Общей молекулой в регуляции является NAD(P)H оксидаза [24]. Не менее важным регулятором продукции простаглицлинов в сосудистом клубочке является окись азота (NO). Эффекты данного регулятора разнообразны и общепризнаны в развитии гломерулярной патологии. Так, в мезангиальных клетках и структурах сосудистой стенки NO активирует продукцию вазоконстрикторных простаноидов: тромбксана B2 и простаглицлина F2 α и угнетает образование вазодилататоров ПГЕ2 и

ПГI2 [25]. Результатом данного эффекта является усиление спазма артериол и агрегации тромбоцитов, что ухудшает гломерулярную гемодинамику и может быть причиной вторичной ишемизации структур почки. Но при этом описан также антипролиферативный эффект NO на мезангиальные клетки за счет повышения уровня цГМФ и угнетения MAPK [9]. Недавние исследования показали, что стойкое повышение уровня гломерулярного NO и ПГЕ2 предшествует развитию гломерулосклероза [26]. Это, вероятно, обусловлено сдвигом метаболизма АК в структурах гломерулы, а также гиперактивацией ренин-ангиотензиновой системы (РАС), потенцируемое ПГЕ2 [24].

Обсуждая ренокортикальные эйкозаноиды, нельзя также обойти вниманием эффекты фактора активации тромбоцитов (ФАТ). Экспрессия эндогенного ренального ФАТ максимально выражена в сосудистых клубочках, где она ассоциирована с мезангиальными клетками, а также зарегистрирована во внутреннем мозговом веществе, продуцентами ФАТ в котором являются ИКл [27]. Индукторами продукции ФАТ является повреждение клеток в результате ишемии и окислительного стресса, интоксикация, активация цитокиновой системы [28]. В результате этого в сосудистом клубочке формируется уникальная система межклеточных коопераций, включающая: «эндотелий-тромбоцит-лейкоцит-мезангиальная клетка», медиаторами отношений в которой являются эйкозаноиды, а конечным результатом действия – изменение проницаемости фильтрационного барьера. Действительно, инфузия ФАТ приводит к выраженной протеинурии. Этот эффект был обусловлен изменением работы каскада АК с преимущественным формированием тромбксанов (A2 и B2) [29]. Введение ингибиторов ФАТ-рецепторов или супрессия тромбксанового пути метаболизма АК оказывало обратный эффект, нормализуя проницаемость фильтрационного барьера. Кроме того, ФАТ, активируя эндотелий, лейкоциты и тромбоциты крови, является одним из индукторов внутригломерулярного воспаления [27].

Таким образом, структурно-функциональное состояние почечного тельца и деятельности фильтрационного барьера во многом определяется статусом метаболизма АК, продуцентами дериватов которых являются все структурные компоненты сосудистого клубочка.

Простаглицлины как факторы интеграции аппарата реабсорбции в почке. Эффективность реабсорбционных процессов в почке определяется ассоциацией между канальцевым эпителием и стенкой перитубулярных капилляров, разделенных интерстицием. Теснота этой связи и параллелизм

перестройки деятельности в разных физиологических и патологических условиях во многом определяется ауто- и паракринными факторами, ведущими из которых являются производные циклооксигеназного пути.

Выяснение механизмов регуляции экспрессии ЦОГ канальцевыми и стромальными структурами показало, что существует специфика регуляции экспрессии ЦОГ в корковом и мозговом веществе. Так, в корковом веществе экспрессия ЦОГ-2 в зоне плотного пятна повышена при низкосолевой диете, при ингибировании РАС, а также в условиях почечной гипоперфузии и назначении фуросемида [16, 17]. Диета с высоким содержанием соли определяет, наоборот, ингибирование активности этого фермента. Но ни одно из этих состояний не вызывает изменения экспрессии ЦОГ-1 в почечной коре. Изменение активности ЦОГ-2 в этой зоне имеет двойное значение: перестройка гемодинамики в сосудистом клубочке, помимо изменения скорости фильтрации, влечет за собой изменение скорости кровотока в сети перитубулярных капилляров [30].

В мозговом веществе экспрессия ЦОГ-1 и ЦОГ-2 ингибируется в условиях низкосолевой диеты и стимулируется при высоком потреблении солей. Кроме того, активность ЦОГ-2 в почечной медулле возрастает в условиях водной депривации [12]. Противоречивы сведения об уровне активности ЦОГ-1 в условиях водной депривации. Так, одни авторы не обнаружили изменения экспрессии данного фермента, а другие зарегистрировали ее увеличение в данных условиях. Для интерстициальных клеток была отмечена роль изменения осмоляльности (тоничности) внеклеточной среды. Так, культивирование ИКл внутреннего мозгового вещества почки показало, что в условиях высокой осмоляльности среды экспрессия ЦОГ-2 в них повышается [31]. Аналогичные результаты были получены в культуре клеток собирательных трубок внутреннего мозгового вещества – IMCD-3 [2]. Исходя из этого, был сделан вывод о наличии прямых параллелей между тоничностью интерстиция почечной медуллы и активностью экспрессии циклооксигеназ в ее структурах. Однако в любом случае можно констатировать наличие разных механизмов (мессенджерных систем), ответственных за регуляцию активности ЦОГ в разных структурно-функциональных компартментах органа. Наиболее ярко это было продемонстрировано на эффектах петлевых диуретиков. Их назначение определяло повышение активности ЦОГ в корковом веществе почки (преимущественно ЦОГ-2 в 2 раза), но обратный эффект – в мозговом веществе [1]. При этом экспрессия ЦОГ-1 и ЦОГ-2 в на-

ружном мозговом веществе не менялась, в во внутренней медулле значительно снижалась, возможно, в результате снижения тоничности (осмоляльности) интерстиция. Это снижение было обусловлено снижением количества молекул ЦОГ-1 и -2. Параллельно с этим отмечалось изменение продукции простагландинов, в первую очередь ПГЕ2 [25]. Длительное назначение петлевых диуретиков вело к 50-кратному повышению уровня этого простаноида в почечной коре с формированием кортико-медулярного градиента уровня данного метаболита АК, несмотря на то что основным местом продукции ПГЕ2 считается внутреннее мозговое вещество [1, 31]. Снижение продукции ПГЕ2 в мозговом веществе органа расценивается авторами как адаптационный механизм, предотвращающий (останавливающий) избыточное снижение осмотического градиента, вызванного длительным назначением петлевых диуретиков. Кроме того, генерация ПГЕ2 отражает защитную реакцию клеток против высокой концентрации электролитов. В этом контексте применение ингибиторов ЦОГ может снижать выживаемость интерстициальных клеток внутреннего мозгового вещества почки.

Выяснение механизмов регуляции экспрессии ЦОГ в мозговом веществе почки продемонстрировало следующее. В ИКл внутренней медуллы стимуляция экспрессии ЦОГ в условиях высокой осмоляльности опосредуется рядом внутриклеточных систем, включая ERK, JNK-2 и p38-киназ, что делает их мишенью различных регуляторов, опосредующих свои эффекты через указанные системы [31]. Ключевым из них является ангиотензин II (Анг II). Он является мощным стимулятором активности ЦОГ [24]. Рецепторы к этому регулятору обнаружены на всех структурах, экспрессирующих ЦОГ: в первую очередь это клетки плотного пятна и интерстициальные клетки внутренней медуллы [12]. Активация AT1-рецепторов ведет к непосредственной или отсроченной (через 4 часа), опосредованной факторами роста или цитокинами, стимуляции экспрессии ЦОГ-1 и ЦОГ-2 [16]. Аналогичный стимулирующий эффект на экспрессию ЦОГ и продукцию простагландинов оказывает брадикинин через B2-рецепторы [4].

Однако ЦОГ катализируют синтез нестабильного промежуточного продукта – ПГH2, который превращается в разные простаноиды. При этом конечная судьба (конечный продукт) зависит от коэкспрессии ферментов синтеза простагландинов или тромбоксанов, включая ПГ E2, ПГ F2 α , ПГ D, ПГ I2, TxA2 [1]. В разрешении данной проблемы ключевую роль сыграло клонирование ферментов синтеза указанных продуктов с определением их

пространственно-специфической экспрессии в почке. Так, была изучена экспрессия ПГЕ2-синтазы, мембрано-ассоциированного фермента, ответственного за синтез ПГЕ2 в различных сегментах нефрона, выделенных методом микродиссекции из почки крыс и кроликов [2, 32]. Распределение экспрессии ПГЕ2-синтазы аналогично ЦОГ-2 (вдоль дистального сегмента нефрона с максимумом в области плотного пятна, вдоль кортикального и медуллярного отделов СТ и в ИКл внутреннего мозгового вещества). Кроме того, синтез ПГЕ2 осуществляется также в нисходящей части петли Генле. Продукция ПГЕ2 в почке значительно повышается параллельно активности ЦОГ, а также при назначении ингибиторов ангиотензин-конвертирующего фермента (каптоприла). Простагландины (ПГЕ2) могут синтезироваться не только в сегментах нефрона, параллельно экспрессирующих ЦОГ и ПГЕ2-синтазу, но также в проксимальном канальце [32], где экспрессия ЦОГ не зарегистрирована, но продукция ПГЕ2 возможна. Еще одним источником продукции простаноидов являются кортикальные фибробласты, также обладающие экспрессией ЦОГ-1 и ПГЕ2-синтазы [2].

Немаловажное значение в определении тубулоинтерстициальных отношений играет также продукция эйкозаноидов со стороны сосудистого русла (эндотелий и форменные элементы крови) при индукции воспалительного процесса [3, 7]. В данном случае продуцируемые метаболиты АК, помимо сосудистых эффектов и расширения интерстиция, играют роль паракринных регуляторов, адаптирующих структурно-функциональное состояние канальцевого эпителия к изменениям в стромальном компоненте органа. Эффекты простагландинов опосредуются через 4 изоформы рецепторов, ассоциированных с G-белком (EP1, EP2, EP3 и EP4) и направлены на регуляцию: 1) канальцевого транспорта [4], 2) гемодинамики [21]; 3) секреции ренина, ауторегуляции нефрона [16, 17], 4) роста и пролиферации клеток стромы и паренхимы [15]; 5) определения судьбы клеток (некроз, апоптоз, выживание) [33].

Рецепторы к простагландинам широко экспрессируются в составе почечного тельца (на мезангиальных клетках, подоцитах, эндотелии), кроме того, они есть на гладких миоцитах сосудов и в эндотелии капилляров коркового и мозгового вещества почки, в эпителии проксимальных канальцев нефрона [2, 32]. Все 4 вида рецепторов обнаружены в клетках собирательных трубочек. Они экспрессируются также в интерстициальных клетках, однако их роль в деятельности клеток пока неясна. Предполагается, что для ИКл простаглан-

дины являются регуляторами жизнеспособности, оказывая цитопротекторное действие и предотвращая их апоптоз [31].

Помимо регуляции транспортных процессов, простаноиды также являются важными модуляторами статуса клеток канальцевого эпителия: пролиферации, роста, ремоделирования цитоскелета, апоптоза и пр. Так, растяжение канальцев при изменении объемной загрузки канальцев нефронов сопровождается активацией ФЛА2 и усилением освобождения арахидоновой кислоты с повышением образования ПГЕ2 [33]. Кроме того, при действии ряда регуляторных сигнальных факторов (активация α 2-адренорецепторов, усиление продукции EGF) также включает цепочку событий, одним из которых является активация продукции ФЛА2 и продукция ПГЕ2 [35]. Не менее важным является участие простаноидной системы тубулярных структур почки в адаптации к условиям окислительного стресса. Так, окислительное повреждение клеток с формированием избытка супероксидных радикалов в ряде случаев сопровождается нарушением редокс-системы в клетках, что ведет к преимущественному образованию ПГ F2 α [20]. Последний, обладая вазоконстрикторным эффектом, в нормальных условиях в тубулярном эпителии метаболизируется до ПГЕ2 [1]. Но в состоянии нарушенного редокс-потенциала эта пропорция нарушается. В связи с чем нарушение отношения ПГЕ2/ПГ F2 α в настоящее время рассматривается как показатель окислительного стресса клеток [20].

ПРОИЗВОДНЫЕ ЦИТОХРОМОВ В ПОЧКЕ

Долгое время данная группа метаболитов АК не попадала в сферу интересов нефрологов. Их считали минорными, или промежуточными, продуктами эйкозаноидов, не придавая им особого значения. Ключевое значение в развитии интереса к данной группе эйкозаноидов сыграл ряд экспериментальных работ, заставивших пересмотреть работу арахидонового каскада в почке. Все точки над «и» были расставлены после экспериментального исследования на трансгенных мышках в модели злокачественной гипертензии [36]. У этих животных была зарегистрирована повышенная экспрессия ренина и ангиотензиногена, результатом чего было развитие гипертензии, воспаления и почечной недостаточности. Как стало ясно, механизм развития данной патологии был связан с нарушением метаболизма р450-зависимых дериватов АК. У животных был обнаружен низкий уровень эпоксигеназ и гидролазной активности (в первую очередь CYP2C11, CYP2C23, CYP2J) в структурах

почки. Более детальное изучение данного вопроса показало, что ключевую роль при этом играет CYP2C23, которая экспрессируется в кортикальных и наружномедуллярных сегментах нефрона, а также в главных клетках кортикального отдела собирательных трубок [4]. Выраженное снижение характерно также для CYP2C11, экспрессия которого наблюдается в наружномедуллярных канальцах (проксимальный прямой каналец и толстая восходящая часть петли Генле) [11]. Тестирование биологических свойств этих дериватов АК показало, что продукты эпоксигенирования АК имеют противовоспалительные свойства [37, 38]. Вот почему снижение их активности при суперэкспрессии P450 ведет к пролонгированию воспалительного процесса в почке.

Не менее интересной представляется работа [39], продемонстрировавшая, что индометацин может индуцировать вазодилатацию в почке. Как оказалось, этот эффект связан с переключением на CYP450-эпоксигеназный путь с образованием альтернативных дериватов АК.

Эпоксидэйкозатриеновые кислоты (ЭЭТ) синтезируются из АК под действием цитохром p450 эпоксигеназ. ЭЭТ встроены в sn-2 позиции в фосфолипиды и быстро мобилизуются под действием Ca^{2+} -ионофоров [38]. Активация экспрессии ЭЭТ происходит под действием связывания с мембранными рецепторами, ассоциированными с G- α -белками или через Src-сигнальный путь.

В почке зарегистрирована продукция целой группы ЭЭТ: 5,6-ЭЭТ; 8-9-ЭЭТ; 11,12-ЭЭТ и 14,15-ЭЭТ, имеющих специфические характеристики в отношении пространственного распределения в органе и принципов регуляции [37]. Их выборочная экспрессия обнаружена в сосудистом клубочке (в мезангиальных клетках и подоцитах), проксимальном и дистальном сегментах нефрона, в собирательной трубке и микрососудах органа [40].

В чем же состоит их функциональное значение? Это ауто- и паракринные регуляторы состояния сосудистого русла и паренхиматозных структур почки. Они модулируют транспорт ионов, экспрессию генов, обладают противовоспалительным и профибринолитическим эффектом [37]. Большинство ЭЭТ являются вазодилататорами, исключением является 14,15-ЭЭТ, обладающая вазоконстрикторным эффектом [38]. Как и простагоиды, ЭЭТ определяют интеграцию эпителиальных структур почки и стромальных элементов [40]. Их идентификация и выяснение функционального значения играет немаловажную роль в экстраполяции ряда фактов, затрагивающих ряд физиологических аспектов и патофизиологических механизмов разви-

тия тубулоинтерстициальных нарушений – хроническое воспаление и склероз [41]. Например, известно, что существует прямая связь между интенсивностью реабсорбционных процессов в кортикальных сегментах нефронов и скоростью ремоделирования интерстиция, прямо зависящая от интенсивности фибринолитических процессов [37]. Открытие данной группы эйкозаноидов позволяет прояснить механизм данного факта, поскольку повышение продукции ЭЭТ наблюдается при действии физических факторов (растяжение канальцев при повышении загрузки ультрафильтратом) и химических регуляторов, включая ангиотензин II и эндотелин-1 [36]. А снижение их экспрессии у трансгенных или спонтанно гипертензивных животных определяет склерозирование интерстиция и пролонгирование воспалительного процесса.

Еще одним видом производных АК являются гидроксидэйкозатетраеновые кислоты (ГЭТЕ). Продукция 19- и 20-ГЭТЕ контролируется цитохромами CYP4A и -4F семейств и осуществляется в эпителиальных структурах почки и микрососудах [11, 42, 43]. Существуют индивидуальные (сегментарные) особенности экспрессии разных цитохромов, часть из них зависит от пола. Экспрессия 20-ГЭТЕ зарегистрирована в почечном тельце, где она определяется в гломерулярных сосудах и подоцитах. Уровень данного метаболита АК возрастает при индукции протеинурии в ответ на повреждение (при действии экстраренальных факторов) и гиперактивности Анг II. Значение 20-ГЭТЕ заключается в реализации цитопротекторного и модулирующего эффектов, предотвращающих прогрессирование протеинурии [44]. Кроме того, повышение уровня 20-ГЭТЕ расценивается как маркер повреждения фильтрационного барьера [45].

Кроме почечного тельца и микрососудов, экспрессия $\omega/\omega 1$ гидроксилазин, генерирующих 19- и 20-ГЭТЕ, наблюдается в ряде сегментов нефрона, включая проксимальный каналец и медуллярную часть ТВОПГ [42]. Последний, как известно, экспрессирует также ЦОГ-2, ПГЕ2-синтазу и CYP450-монооксигеназы, отвечающие за синтез ЭЭТ [39]. Интересно, что регулятором баланса между CYP и ω -гидроксилазой может быть активность индукцибельной ЦОГ-2 при ряде условий: например, при длительной инфузии Анг II, адреналэктомии, повышении внеклеточного уровня Ca^{2+} [40]. Кроме того, возможна конкуренция или последовательная активация указанных ферментов. Так, непосредственный эффект Анг II ведет к увеличению продукции 20-ГЭТЕ, тогда как длительная инфузия Анг II провоцирует преимущественную секрецию ПГЕ2 [44]. Последний эффект обусловлен активацией экспрес-

сии ФНО α , который, в свою очередь, активирует ЦОГ-2 экспрессию через 3-4 часа после начала инкубации. В отличие от этого прямой эффект Анг II активирует ω -гидролазу и продукцию 20-ГЭТЕ [11]. Аналогичный эффект был продемонстрирован для брадикинина, который может ингибировать транспорт ионов в ТВОПГ через стимуляцию продукции 20-ГЭТЕ [44].

Одними из альтернативных регуляторов этой группы метаболитов являются оксид азота и пероксинитрит, которые ингибируют гемопротеины, включая цитохром р450 монооксигеназы, что ведет к снижению количества эпоксидов и ГЭТЕ [46].

Значимость ГЭТЕ сводится к модулирующим аутокринным и паракринным эффектам в почке. Так, 20-ГЭТЕ, стимулируемая Анг II, модулирует эффекты последнего, смягчая вазоконстрикцию и тем самым оказывая защитное действие на проницаемость гломерулярного барьера [45]. Соответственно, при угнетении образования 20-ГЭТЕ зарегистрирована выраженная протеинурия и тенденция к развитию гипертензии [47].

ЭКСПРЕССИЯ ЛЕЙКОТРИЕНОВ В ПОЧКЕ

Еще в 1981 году появились первые сведения о продукции продуктов липоксигеназного пути в почке. Так, T.S. Winokur и A.R. Morrison сообщили о синтезе 12-оксидэйкозатетраеновой кислоты (ОЭТЕ) и 15-ОЭТЕ в мозговом веществе почки [48]. Затем был идентифицирован синтез 12-ОЭТЕ в культуре подоцитов, что исключало возможность влияния лейкоцитарных и тромбоцитарных ферментов. Как впоследствии оказалось, интерес к этому вопросу был не случаен и во многом носил характер предвидения. Через десятилетия в экспериментальных условиях была доказана роль лейкотриенов в патогенезе гломерулонефрита [49, 50]. Высокий базальный синтез ЛТВ4 обнаружен в изолированных клубочках у крыс с гломерулонефритом, индуцированным введением бычьего гамма-глобулина. Аналогичные результаты получены при индукции гломерулонефрита введением нефротоксической сыворотки с иммуноглобулинами к антигенам базальной мембраны гломерулы [51].

Детальное изучение топики ферментов синтеза лейкотриенов показало наличие достаточно широкой сети ЛТ в структурах паренхимы и стромы почки. Ключевым ферментом синтеза ЛТ является 5-липоксигеназа (5-ЛОГ). Различные формы стресса: химический, осмотический, тепловой шок ведут к стимуляции образования продуктов 5-ЛОГ-пути в присутствии эндогенной или экзогенной АК [52]. Параллельно клеточный стресс ведет к ак-

тивации р38 МАРК и киназы, активирующей протеинкиназы (МАРКАРК), которые могут фосфорилировать 5-ЛОГ, повышая активность фермента. Не менее важным фактором в определении интенсивного синтеза лейкотриенов (ЛТ) является транслокация фермента в мембраны клетки (мембраны комплекса Гольджи, эндоплазматической сети, ядерной оболочки). Этот процесс осуществляется с помощью белка, активирующего 5-ЛОГ (FLAP) [53].

Непосредственным местом экспрессии 5-ЛОГ и FLAP в почке являются сосудистый клубочек (преимущественно мезангиальные клетки и эндотелий) и прямые сосуды мозгового вещества [5]. Однако в результате работы 5-ЛОГ образуется лишь предшественник – ЛТА4, являющийся промежуточным и временным продуктом, подвергающимся дальнейшему превращению в 2 вида медиаторов: ЛТВ4 под действием фермента ЛТ А4-гидролазы и сульфопептидных ЛТ С4, Д4 и Е4, условием образования которых является активность фермента ЛТ С4-синтазы.

Интрига заключается в том, что лейкотриен А4 гидролаза обнаружена во всех сегментах нефрона, что предполагает возможность синтеза ЛТ В4 клетками тубулярного эпителия [5]. Учитывая, что ЛТВ4 является мощным хемоаттрактантом, хемотаксисом, обладает вазоактивным действием, стимулируя привлечение и адгезию нейтрофилов к эндотелию венул (за счет повышения экспрессии CD11/CD18 на поверхности нейтрофилов, и CD45 на эндотелии) [49], можно смело утверждать, что нефрон является не столько жертвой, сколько активным участником и даже индуктором воспаления в почке [54], возможно определяющим его разрешение или хронизацию.

В отличие от этого лейкотриен С4-синтаза в клетках нефрона не экспрессируется.

Изучение распределения рецепторов к лейкотриенам показало преимущественную роль в почке ЛТ В4. Рецепторы к ЛТВ4 и цистенил лейкотриенам (1-й тип) экспрессируются только в гломеруле, а экспрессия рецепторов 2-го типа к цистенил-лейкотриенам в структурах нефрона не зарегистрирована [5].

Исходя из выше приведенной информации можно говорить о том, что основной мишенью действия ЛТ являются сосудистые клубочки и стромальные элементы почки. Действительно, интратенальная инфузия лейкотриенов *in vivo* вела к снижению гломерулярного плазмотока и скорости фильтрации, а также к увеличению инфильтрации нейтрофилами гломерул [51]. Кроме того, при гломерулонефрите зарегистрировано увеличение экспрессии FLAP в эндотелии, коррелирующее с выраженностью про-

теинурии [50]. Использование антагонистов FLAP закономерно вело к снижению продукции ЛТ, уменьшению повреждения и воспаления, а также развитию антипротеинурического эффекта [53].

Эти экспериментальные наблюдения были подтверждены клиническими исследованиями. Так, в острой фазе гломерулонефрита уровень ЛТВ4 прямо коррелирует с количеством нейтрофилов в гломеруле, а обратно – с СКФ и скоростью почечного кровотока [49]. Сульфопептидные лейкотриены также могут редуцировать скорость гломерулярного кровотока и фильтрации за счет индукции сокращения мезангиальных клеток.

Заслуживает внимания тот факт, что ингибирование активности 5-ЛОГ (зилотон и пр.) вело к предотвращению апоптоза в тубулярных клетках при ишемии/реперфузии [55]. Как выяснилось, существуют два механизма индукции апоптоза: через супероксидные радикалы (не зависит от ЛТ и не меняется под действием *nordihydroguaiaretic acid* (NDGA) – ингибитор ЛОГ); через каспазы и метаболиты поли(АДФ-рибозы) – активируемые ЛТ. Аналогичные сведения получены при использовании блокаторов рецепторов к ЛТ (монтелукаст), результатом которого было снижение оксидативного повреждения клеток тубулярного эпителия в патогенезе синдрома мультиорганной недостаточности при ожоговой болезни [56]. Однако данный эффект был опосредован через нейтрофил-зависимый механизм. В связи с этим выяснение роли ЛТ в патофизиологии почки остается открытым вопросом.

ЛИПОКСИНЫ

Проблема формирования хронических нефропатий после перенесенных острых заболеваний или экстремальных состояний в конечном счете сводится к разрешению вопроса о механизме хронизации воспалительного процесса в почках и возможности фармакологической коррекции с целью разрешения воспаления. Обсуждение данного вопроса невозможно без рассмотрения роли липоксинов (ЛХ). Впервые синтез липоксинов был описан в 1984 г [10]. Возможны два пути синтеза ЛХ. Первый осуществляется при участии 15-ЛОГ, генерирующей образование липоксинов А4 и В4. Они являются вазоактивными молекулами, преимущественно вазодилататорами, способными регулировать функции лейкоцитов. При этом инициация синтеза ЛХ под действием 15-ЛОГ блокирует активность 5-ЛОГ и образование ЛТ. Второй путь основывается на возможности взаимодействия (адгезии клеток) с целью обмена субстратами. Впервые этот процесс был описан на модели нейтрофил-тромбоцит взаимодействия [6]. При этом

для синтеза ЛХ используется 5-ЛОГ нейтрофилов, образующая ЛТА4, освобождающийся во внеклеточную среду, и 12-ЛОГ тромбоцитов, превращающая ЛТА4 в липоксин А4 или В4.

Расширение современных представлений о роли ЛТ и ЛХ в патогенезе хронических воспалительных заболеваний разных органов привело к идентификации более широкого спектра тканевых элементов, способных продуцировать производные липоксигеназы. И структуры почки закономерно оказались в этом списке. Действительно в почке обнаружена экспрессия 12-ЛОГ, сосредоточенная только в сосудистом клубочке, преимущественно в подоцитах, и 15-ЛОГ, которая экспрессируется вдоль дистальной части нефрона и в собирательных трубках [5]. Учитывая, что ЛХ являются аутокринными регуляторами воспаления и антагонистами эффектов ЛТ, неудивительно, что на данном этапе разрабатывается стратегия их использования в клинической практике в качестве ингибиторов воспаления [10].

Таким образом, почка обладает широким спектром эйкозаноидов, которые не только являются детерминантами индивидуальности каждого сегмента нефрона и интеграторами деятельности паренхиматозных и стромальных структур органа, но также определяют их судьбу в условиях развития патологического процесса.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Данн МДж (ред.). *Почечная эндокринология*. Медицина, М., 1987; 11-111
2. Campean V, Theilig F, Paliege A et al. Key enzymes for renal prostaglandin synthesis: site specific expression in rodent kidney (rat, mouse). *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F19-F32
3. Karnik AM, Bashir R, Khan FA. Renal involvement in the systemic inflammatory reaction syndrome. *Renal Fail* 1998; 20: 103-116
4. McGiff JC, Ferreri NR, Carroll MA. The eicosanoid factor: a determinant of individuality of nephron segment. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53 (4): 525-532
5. Reinhold SW, Vitzthum H, Filbeck T et al. Gene expression of 5-, 12- and 15-lipoxygenases and leukotriene receptors along the rat nephron. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289 (6): F1138-F1143
6. Fitzpatrick FA, Soberman RJ. Regulates formation of eicosanoids. *J Clin Invest* 2001; 277: 1347-1351
7. Piro M, Giubilato G, Pinelli M. Endothelium and inflammation. *Panminerva Med* 2005; 47 (2): 75-80
8. Han WK, Sapirostein A, Hung CC et al. Cross-talk between cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) alpha and secretory PLA2 (sPLA2) in hydrogen peroxide-induced arachidonic acid release in murine mesangial cells. *J Biol Chem* 2003; 278 (26): 24153-24163
9. Nasrallah R, Landry A, Scholey JW et al. Characterisation of the prostaglandin synthesis in cultured mesangial cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2004; 70 (5): 455-464
10. Kantarki A, Thomas EVD. Lipoxins in chronic inflammation. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14 (1): 4-12
11. Natarajan R, Reddy MA. HETEs and EETs in renal

- glomerular and epithelial cell function. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3 (2): 198-203
12. Castrop H, Schweda F, Schumacher K et al. Role of renocortical cyclooxygenase-2 for renal vascular resistance and macula densa control of renin secretion. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 867-874
 13. Kriz W, LeHir M. Pathways to nephron loss starting from glomerular diseases – insights from animal model. *Kidney Int* 2005; 67 (2): 404-419
 14. Patrignani P, Tacconelli S, Sciulli MG, Capone ML. New insights into COX-2 biology and inhibition *Brain Res Brain Res Rev* 2005; 48 (2): 352-359
 15. Vitzthum H, Abt I, Einhellig S. Gene expression of prostanoid forming enzymes along the rat nephron. *Kidney Int* 2002; 62: 1570-1581
 16. Harris RC, Breyer MD. Physiological regulation of COX-2 in the kidney. *Am J Renal Physiol* 2001; 281: F1-F11
 17. Harris RC. Cyclooxygenase-2 in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 2387-2394
 18. Schermann J. Cyclooxygenase-2 and macula densa control of renin secretion. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 1735-1738
 19. Petry C, Fritz G, Pfeilschifter J. Inhibition of Rho modulates cytokine induced prostaglandin E2 formation in renal mesangial cells. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1636 (2-3): 108-118
 20. Favreau F, Petit-Paris I, Hauet T. Cyclooxygenase 1-dependent production of F2-isoprostane and changes in redox status during warm renal ischemia-reperfusion. *Free Radic Biol Med* 2004; 36 (8): 1034-1042
 21. Nasrallah R, Hebert RL. Prostacyclin signaling in the kidney: implications for health and disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289 (2): F235-246
 22. Jansen BL, Stubbe J, Hansen PB. Localization of prostaglandin E2 receptors in the rat kidney *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280: F1001-1009
 23. Lemieux LI, Rahal SS, Kennedy CR. PGE2 reduces arachidonic acid release in murine podocytes: evidence for autocrine feedback loop. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284 (2): 302-309
 24. Undurti ND. Is angiotensin II an endogenous pro-inflammatory molecule? *Med Sci Monit* 2005; 11 (5): R155-162
 25. Masaru M, Rich KA, Ingram M et al. Nitric oxide, anti-inflammatory drugs on renal prostaglandins and cyclooxygenase-2. *Hypertension* 2002; 39: 785-789
 26. Weicher W, Paliege A, Provoost AP. Upregulation of juxtaglomerular NOS1 and COX-2 precedes glomerulosclerosis in fawn-hooded hypertensive rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280: 706-714
 27. Asano K, Taniguchi S, Nakao A et al. Distribution of platelet activating protein receptor mRNA along the rat nephron segments. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225 (2): 352-357
 28. Chao W, Olson MS. Platelet-activating factor: receptor and signaling transduction. *Biochem J* 1993; 292: 617-629
 29. Kester M, Thomas CP, Wang J. Platelet activating factor stimulates multiple signaling pathways in cultured rat mesangial cells. *J Cell Physiol* 1992; 153 (2): 244-255
 30. Harris RC. Cyclooxygenase-2 inhibition and renal physiology. *Am J Cardiol* 2002; 89: 10-17
 31. Castrop H, Vitzthum H, Schumacher K et al. Low tonicity mediates a downregulation of COX-1 expression in the rat renal papilla. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1136-1144
 32. Fuson AL, Komlosi P, Unlap TM. Immunolocalization of a microsomal prostaglandin E synthase in rabbit kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 285: F558-F564
 33. Nishimura K, Tsumagari H, Morioka A et al. Regulation of apoptosis through arachidonate cascade in mammalian cells. *Appl Biochem Biotechnol* 2002; 102-103 (1-6): 239-250
 34. Alexander LD, Alagarsamy S. Cyclic stretch induced cPLA2 and ERK 1/2 signaling in rabbit proximal tubule. *Kidney Int* 2004; 65 (2): 551-558
 35. Han HJ, Park SH, Lee YJ. Epidermal growth factor effects in primary cultured renal proximal tubule cells: involvement of cAMP, PKC and PLA2. *Kidney Blood Press Res* 2003; 26 (3): 155-164
 36. Kaergel E, Muller DN, Honek H. P450-dependent arachidonic acid metabolism and angiotensin-II-induced renal damage. *Hypertension* 2002; 40: 273-279
 37. Node K, Huo Y, Ruan X. Anti-inflammatory properties of cytochrome p450 epoxygenase-derived eicosanoids. *Science* 1999; 285: 1276-1279
 38. Spector AA, Fang X, Snyder GD. Epoxyeicosatrienoic acids: metabolism and biochemical function. *Prog Lipid Res* 2004; 43 (1): 55-90
 39. Caron N, Hajjam A, Decleves AE. Changes in renal hemodynamics induced by indomethacin in the rat involve cytochrome P450 arachidonic acid-dependent epoxygenases. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2004; 31 (10): 683-690
 40. Stec DE, Flasch A, Roman RJ. Distribution of cytochrome P450 isoforms along the nephron in mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284 (1): F95-F102
 41. Ruggerenti P, Schieppati A, Remuzzi G. Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet* 2001; 357: 1601-1608
 42. Oyekan AO. Differential effects of 20-HETE on intrarenal blood flow in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 313 (3): 1289-1295
 43. Yu Z, Davis BB, Morriseau C et al. Vascular location of soluble epoxide hydrolase in the human kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286 (4): F720-726
 44. Alonso-Galicia M, Maier KG, Green AS. Role of 20-HETE in the renal actions of angiotensin II. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283 (1): R60-68
 45. McCarthy ET, Sharma R, Sharma M. Protective effect of 20-HETE on glomerular protein permeability barrier. *Kidney Int* 2005; 67 (1): 152-163
 46. Oyekan AO. Nitric oxide inhibits renal cytochrome P450-dependent epoxygenases in the rat. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002; 29 (11): 990-995
 47. Hoagland KM, Flasch AK, Roman RJ. Inhibition of 20-HETE formation promote salt-sensitive hypertension in rats. *Hypertension* 2003; 42 (4): 669-673
 48. Winokur TS, Morrison AR. Regional synthesis of monohydroxy eicosanoids by the kidney. *J Biol Chem* 1981; 256: 10221-10223
 49. Henderson WR. The role of leukotrienes in inflammation. *Ann Int Med* 1994; 121 (9): 684-697
 50. Абрамова ТВ. Нейтрофилы при гломерулонефрите *Нефрология* 2005; 9 (2): 9-16
 51. Montero A, Uda S, Kelavkar U. Increased 5-lipoxygenase activating protein in immune-mediated experimental nephritis. *J Nephrol* 2003; 16 (5): 686-690
 52. Brock TG. Regulating leukotriene synthesis: the role of nuclear 5-lipoxygenase. *J Cell Biochem* 2005; 126 (2): 138-142
 53. Valdivielso JM, Montero A, Bard KF. Inhibition of 5-lipoxygenase activating protein decreases proteinuria in diabetic rats. *J Nephrol* 2003; 16 (1): 85-94
 54. Daha MR, van Kooten C. Is proximal tubular cell a proinflammatory cell? *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 [Suppl. 6]: 41-43
 55. Patel NS, Cuzzocrea S, Chatterjee PK. Reduction of renal ischemia-reperfusion injury in 5-lipoxygenase knockout mice and by the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton. *Mol Pharmacol* 2004; 66 (2): 220-227
 56. Sener G, Kaabsakal L, Cetinel S. Leukotriene receptor blocker montelukast protects against burn-induced oxidative injury of the skin and remote organs. *Burns* 2005; 31 (5): 587-596

Поступила в редакцию 03.03.2006 г.