

УДК 575.224.22:616.248:616.9

*Р.И.БЕРСИМБАЕВ, Т.Е.ЕЦЖАНОВ, А.К.БАЙГЕНЖИН**

РОЛЬ АПОПТОЗА ИММУННЫХ КЛЕТОК ПРИ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ

(*Евразийский национальный университет им. Л.Н.Гумилева, Астана;*
**Национальный научный медицинский центр, Астана*)

Апоптоз является одним из важнейших общебиологических механизмов регуляции численности клеток и поддержания тканевого гомеостаза. Нарушение регуляции апоптоза приводит к возникновению заболеваний, связанных с усилением или, наоборот, ингибированием апоптоза. Бронхиальная астма относится к группе заболеваний, где центральную роль в регуляции клеточного баланса иммунокомпетентных клеток играют процессы апоптоза. Установлено, что патогенез развития заболевания, его течение зависят от многих причин, в том числе от количества и соотношения популяций клеток, медиаторов и факторов межклеточных взаимодействий. Настоящий обзор посвящен анализу роли апоптоза иммунных клеток и путей его регуляции при атопической бронхиальной астме.

Апоптоз, или программируемая клеточная смерть – физиологический процесс клеточной гибели с характерными морфологическими и биохимическими признаками, в результате которой происходит освобождение организма от ненужных клеток. Под термином «апоптоз» понимается естественное регулирование числа клеток путем их уничтожения, нежели клеточного деления. Термин «программированная клеточная смерть» отражает функциональное назначение этого процесса, представляющего естественную часть жизни многоклеточного организма, связанного с метаморфозом и развитием [1]. Апоптоз является нормальным механизмом в процессе эмбриогенеза, развития, инволюции, атрофии, дифференцировки и других физиологических состояний [2]. Его результатом является постепенное и медленное избавление от клеток, не нужных в функциональном отношении на данный момент. При этом не развивается воспаление и не нарушается нормальное функционирование соседних клеток, а также не происходит соединительно-тканного замещения, что позволяет сохранить структуру органа. Апоптоз играет важную роль в регуляции численности клеток на протяжении всего онтогенетического развития многоклеточного организма. Клетки умирают от апоптоза в развивающемся эмбрионе в ходе морфогенеза или синантогенеза и во взрослых животных в ходе обновления тканей [3].

Отмирание клеток тканей и органов животных и человека происходит с помощью двух разных механизмов – некроза и апоптоза [4]. В сильно поврежденных тканях преобладают процессы некроза, которые затрагивают целые клеточные поля и характеризуются пассивной дегенерацией клеток с набуханием и фрагментацией органелл, разрушением мембран, лизосом клеток, выходом внутриклеточного содержимого в окружающую ткань и развитием воспалительного ответа. Некроз всегда обусловлен грубой патологией, его механизмы не требуют затрат энергии и предотвратить его можно, только устранив причину повреждения [5].

В отличие от пассивного патологического процесса – некротической гибели клеток, апоптоз – высокорегулируемый активный процесс, который реализуется в несколько стадий. В большинстве случаев апоптоз характеризуется сморщиванием клетки, перестройкой мембранных структур, уменьшением объема клетки, конденсацией ядра, разрывом ядерной ДНК с последующим распадом ядра на части [6].

Стадии апоптоза

В развитии апоптоза выделяют четыре морфологически различные стадии (фазы): 1). сигнальная стадия или фаза инициации; 2). контрольная и регулируемая фаза; 3). фаза экзекуции и «блеббинга»; 4). фаза удаления. Схематическое изображение стадий апоптоза представлено на рис. 1 [7].

Первая стадия – фаза инициации – прием сигнала, поступающего к клетке извне или возникающего в недрах клетки. Индукторами апоптоза могут быть как внешние (внеклеточные) факторы, так и внутриклеточные сигналы. Сигнал воспринимается рецептором и далее последовательно передается молекулам-посредникам (мессенджерам) различного порядка и достигает ядра, где происходит включение программы клеточного «самоубийства» путем активации летальных и/или подавления (репрессии) анти-летальных генов [8,9].

На втором этапе – **контрольная и регулируемая фаза** – молекулы-посредники передают полученный сигнал, он достигает ядра, и в результате запуска генетической программы синтезируются или активируются ферменты, способные разрушать клеточные белки и нуклеиновые кислоты [10]. Каскад может приостановиться или продолжаться и повлечь за собой апоптоз.

На третьей стадии – **фаза экзекуции и блеббинга** – в ядре регистрируются первые морфологические признаки апоптоза - конденсация хроматина с формированием его осмиофильных скоплений, прилежащих к ядерной мембране [11]. Позже появляются инвагинации (вдавления) ядерной мембранны, и происходит фрагментация ядра. В основе деградации хроматина лежит ферментативное расщепление ДНК. Сначала образуются фрагменты, включающие 700, 200-250, 50-70 тыс. пар оснований, затем – фрагменты, содержащие 30-50 тыс. пар оснований. После реализации этого этапа процесс становится необратимым.

Во время **четвертой фазы - фаза удаления** – небольшие остатки клеток в форме мембранных везикул с внутриклеточным содержимым («апоптотозные тельца») захватываются фагоцитами, что предотвращает развитие воспалительной реакции. На этом заключительном этапе структурные и функциональные белки разрушаются, клетка теряет целостность и становится «пищей» для макрофагов [6,9,12].

Регуляция апоптоза

Апоптоз является высокорегулируемым процессом клеточной смерти, который позволяет эlimинировать ненужные, поврежденные или инфицированные клетки. В запуске и развитии апоптоза центральную роль играют специфические цистеиновые протеазы, названные **каспазами**

[13]. Эта группа протеаз существует обособленно и функционирует как медиатор сигнала смерти клетки. В настоящее время детально охарактеризованы **три различные пути регуляции апоптоза** (рис.2) [14].

Первый путь активируется в ответ на внеклеточные сигналы и связан с взаимодействием индуктора апоптоза со специфическими рецепторами на поверхности клеточной мембраны (например, активация каспазы-8 при взаимодействии Fas- лиганда с Fas- рецептором или связыванием членов семейства факторов некроза опухоли TNF-б (Tumor Necrosis Factor-б) с TNFR1- рецептором [15]. Это приводит к мультимеризации рецепторов смерти и образованию сигнальных комплексов, индуцирующих клеточную смерть (DISC - Death-Inducing Signaling Complex), содержащих различные адаптерные молекулы, например, как Fas-зависимый домен смерти FADD (Fas-Associated Death Domain). FADD взаимодействует с каспазой-8, приводя к аутолитической активации проакаспазы-8 в каспазу-8. Казпаза-8 затем активирует каспазу-3, которая в итоге реализовывает апоптоз путем высвобождения казпаз-активированных ДНК-аз (CAD- caspase-activated DNase) от их ингибитора (ICAD) с последующей фрагментацией ДНК[16,17]. Этот путь называется рецептор-опосредованный внешний путь (рис 2.). Очень важно то, что каспаза-8 также расщепляет проапоптический белок Bid, который затем через взаимодействие с Bax и Bak перемещается в митохондрии и вызывает освобождение цитохрома С (см. рис.2).

К настоящему времени в различных клетках млекопитающих обнаружено более 10 каспаз, образующих ферментативный каскад [13,18], подобно ферментативному каскаду свертывающей системы крови. Каспазы имеют высокую степень гомологии по своей аминокислотной последовательности, схожи по структуре и по субстратной специфичности. Среди каспаз различают эффекторы, т.е. ферменты непосредственно гидролизующие структурные белки клетки, и индукторы – каспазы, которые принимают апоптотический сигнал и передают его на эффекторные каспазы [15]. Среди молекулярных мишней каспаз-эффекторов известны многие белки, деградация которых вызывает развитие необратимых процессов, характерных для апоптоза. По

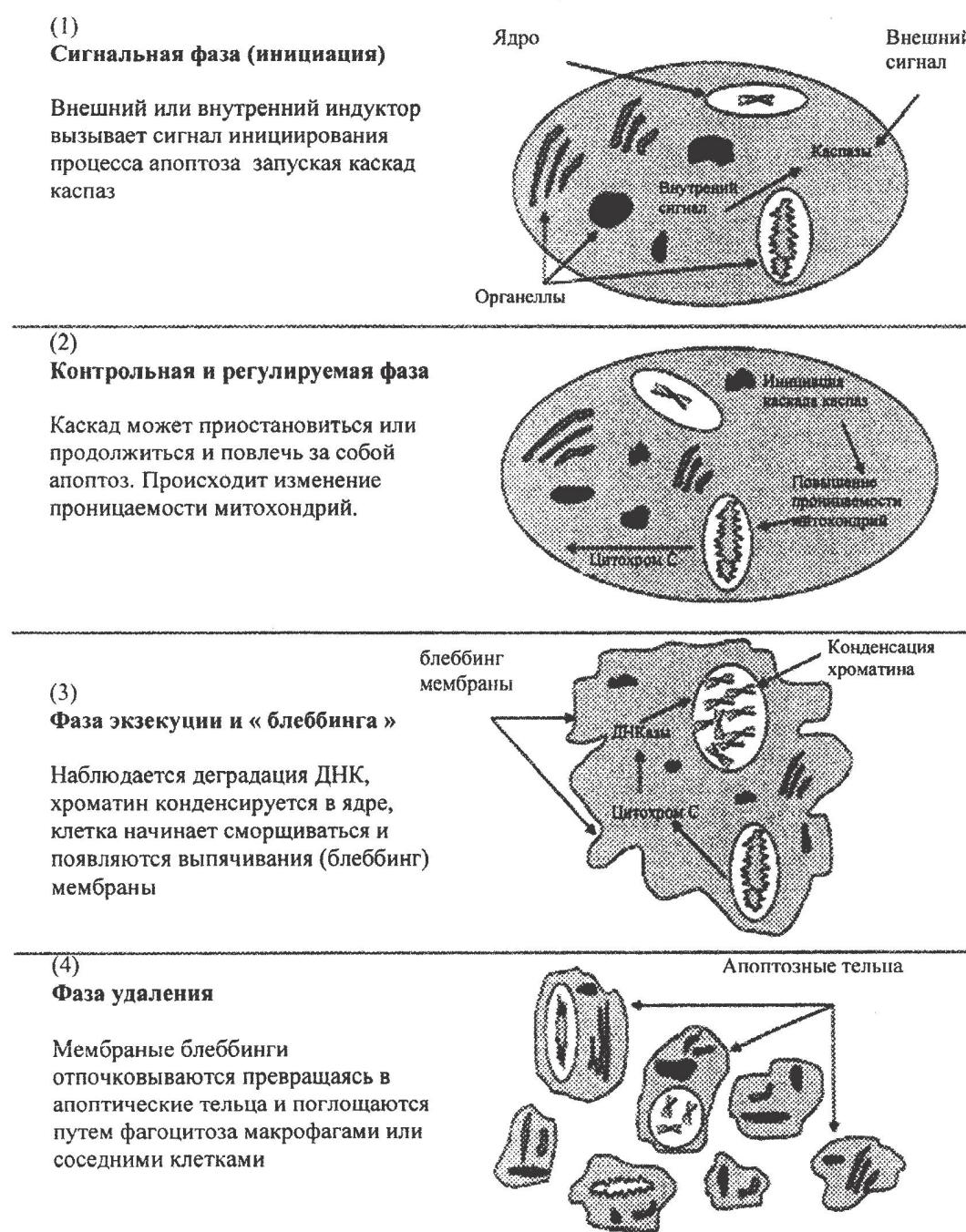


Рис. 1. Схематическое изображение стадий апоптоза (по Pierce et al., 2007) [7].

функциональным свойствам каспазы могут быть разделены на три группы: активаторы цитокинов (каспазы 1,4,5,13); индукторы активации эффекторных каспаз (каспазы 2,8,9,10); эффекторные каспазы - исполнители апоптоза (каспазы 3,6,7,14). Каспазы находятся в клетках в неактивном состоянии (прокаспазы), их активация происходит в результате протеолитического расщепления. Эффекторные каспазы осуществляют

каскад протеолитических событий, целью которых является апоптозный «демонтаж» клетки. Они атакуют в общей сложности около двух десятков структурных и функциональных белков [13,15,18].

К первому же пути регуляции апоптоза относится активация каспаз при помощи гранзимов В - сериновой протеазы [19]. Такой путь активации актуален в случае индукции апоптоза клет-

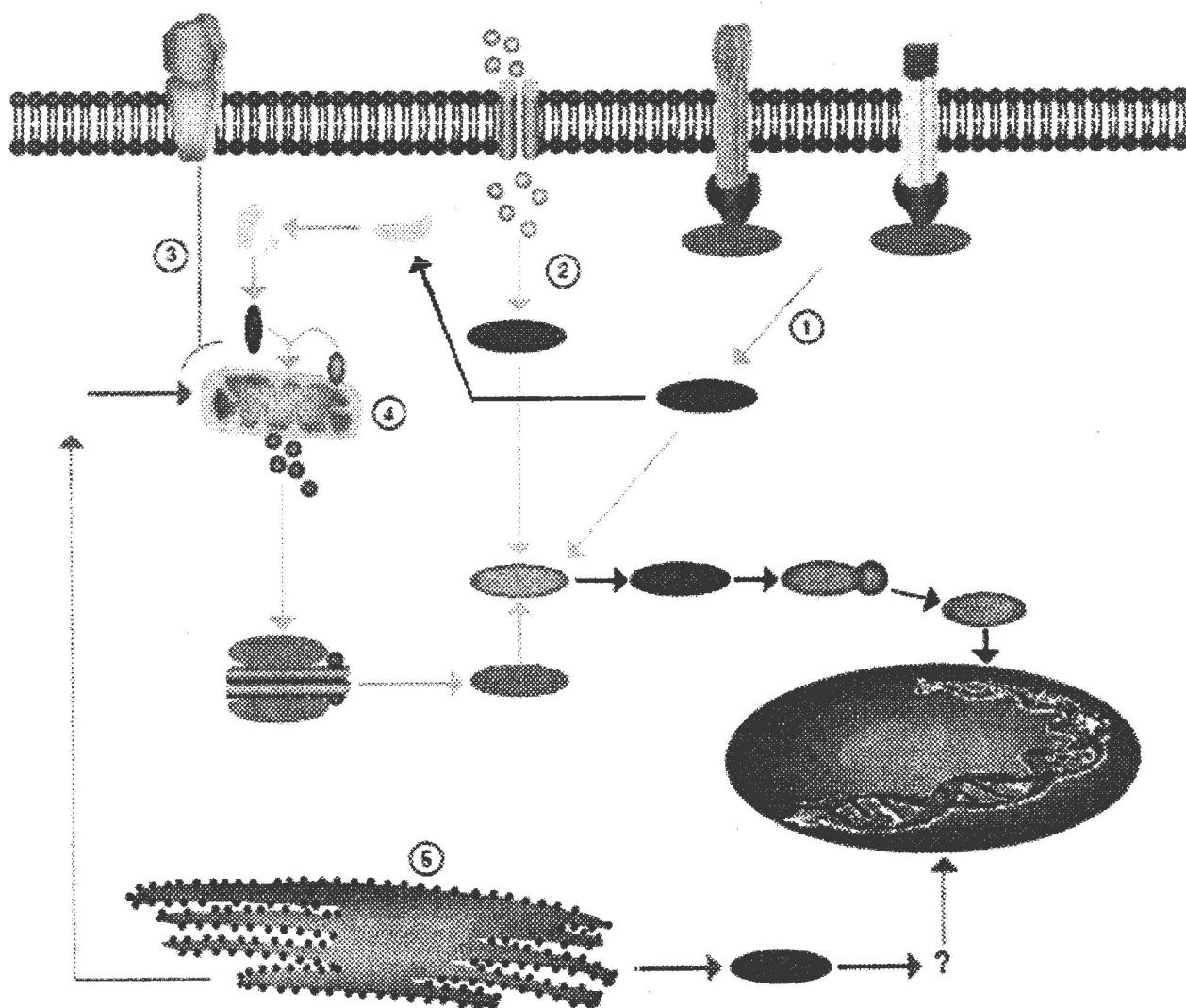


Рис. 2. Схема путей регуляции апоптоза (объяснения в тексте) (по Demedts et.al.,2006) [14].

ки цитотоксическими Т-лимфоцитами, которые и секретируют эти ферменты. При таком способе активации каспаз необходимо присутствие порообразующих белков - перфоринов, продуцируемых также цитотоксическими Т-лимфоцитами. Гранзимы В активируют каспазу-3, которая далее расщепляет каспазу-8 и приводит к апоптозу (см.рис.2). В качестве мишений гранзимов В известны каспазы 1, 3 и 9 [14,15].

Второй путь регуляции апоптоза - митохондриальный путь - связан с освобождением из митохондрий цитохрома С в ответ на химические и физические стрессовые сигналы [20,21]. Выходящий из митохондрий цитохром С, взаимодействует с фактором, активирующим апоптотические протеазы -Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) для последующей активации

каспазы-9. Образовавшийся комплекс - цитохром С, Apaf-1 и каспаза-9, который известен под названием апоптосома, затем активирует каспазу-3 и инициирует реализацию процесса апоптоза. Из митохондрий выделяются и другие факторы – вторичный митохондриальный активатор каспаз - Smac и Omi, которые усиливают непрямым путем активность апоптосомы. Smac и Omi угнетают активность семейства апоптозингирующих белков (IAP).

Третий путь активации каспаз – эндоплазматическо-ретикулярный путь. При таком способе регуляции апоптоза каспаза-12 активируется в ответ на стрессовый сигнал, например, на гипоксию [22].

Внутри рассмотренных сигнальных путей функционирует несколько других важных регу-

ляторных звеньев, усиливающих ответ. Например, каспаза-8 также активирует белок Bcl-2 и один из доменов проапоптического белка Bid, вызывающий повышение проницаемости мембран митохондрий. Инициирующие и эффекторные каспазы могут усиливать сигнализацию путем расщепления митохондриальных белков, нарушая проницаемость митохондрий [15,18].

Существует еще каспазонезависимый путь, ведущий к апоптозу, который реализуется при участии белка - AIF (Apoptosis Inducing Factor), активирующего протеолитические ферменты в результате транслокации в ядро. Следует подчеркнуть, что развитие апоптоза может быть заблокировано на некоторых этапах проведения сигнала, для чего в самой клетке существуют механизмы, которые реализуются благодаря действию белков с антиапоптозной активностью. Так, например, решение жить или умереть клетке принимается на уровне белков семейства Bcl-2 на основании преобладания активных супрессоров или промоторов апоптоза. Про- и антиапоптозное действие активированных белков семейства Bcl-2 реализуется главным образом через модуляцию активности митохондрий [23].

Таким образом, регуляция апоптоза опосредована двумя различными, но перекрещивающимися сигнальными путями: **внешний** - через поверхностные рецепторы мембран так называемого региона «клеточной смерти» и **внутренний** - через митохондрии и эндоплазматический ретикулум.

Внешний путь индуцируется физиологическими факторами-индукторами апоптоза, такими как цитокины, гормоны, пептидные ростовые факторы и др. К экзогенным факторам относят биологические (бактерии, вирусы), физические (облучение, высокие и низкие температуры), антигены, химические вещества (кислоты, щелочи, соли тяжелых металлов, лекарственные препараты). Внешний путь начинается с клеточных рецепторов, специально предназначенных для включения программы апоптоза.

Внутренний сигнальный путь апоптоза запускается недостатком или отсутствием факторов роста, клеточным стрессом или цитотоксическими факторами (лекарственные средства, ксенобиотики, глюкокортикоиды и т. д.), действием радиации, которые действуют в концентрациях, не вызывающих цитолиза.

Регуляция апоптоза представляет собой пример сбалансированного механизма с многократным дублированием противовесов, призванным обеспечить надежный контроль за реализацией столь важной для клетки программы и в то же время делающим ее очень зависимой от внешних и внутренних воздействий. Детальное понимание механизмов апоптоза дает возможность инициировать или ингибировать процесс гибели клеток [24].

В целом, действующие при апоптозе факторы можно разделить на две группы: 1. Вещества и воздействия, в большинстве случаев **активирующие** программу запуска апоптоза; 2. Вещества и воздействия, которые преимущественно **ингибируют** запуск апоптоза.

К **активирующему факторам** относится фактор некроза опухоли-б (TNF-б), Fas (CD95), его лиганд FasL, трансформирующий фактор роста в интерлейкины (ИЛ-1, ИЛ-10), глюкокортикоиды, оксиданты, свободные радикалы, антиметаболиты; большинство вирусов, цитотоксические лимфоциты и др. [3,6].

Ростовые факторы фибробластов, инсулиноподобные ростовые факторы, соединения цинка и меди, андрогены и эстрогены, ИЛ-3, ИЛ-4, белок p-53, ингибиторы протеаз, индукторы опухолевого роста, ингибиторы кальпиона относятся к **ингибирующим факторам** апоптоза [3,6].

Другим механизмом, направленным на подавление апоптоза, является активация транскрипционного фактора NF-кВ. Известен целый ряд антиапоптозных белков, кодируемых генами, экспрессия которых возрастает под действием NF-кВ [25].

В последнее время большое внимание уделяется изучению апоптоза с точки зрения влияния его на различные патологические процессы [14,26]. Патогенез многочисленных заболеваний связан с нарушением тканевого гомеостаза из-за контроля над программированной клеточной гибелю. В основе многих лимфопролиферативных и аутоиммунных заболеваний существенное значение принадлежит процессу нарушения клеточного апоптоза по типу блока негативной активации, в результате чего возникает неудержимая клеточная пролиферация, в том числе и «запрещенных» клонов лимфоцитов [25,26].

Система программируемой клеточной смерти - существенный фактор иммунитета, посколь-

ку гибель зараженной клетки может предотвратить распространение инфекции по организму. Многие инфекционные агенты выработали специальные меры для предотвращения преждевременной гибели зараженных клеток. Апоптоз играет важную роль в обеспечении гомеостаза тканей, осуществляя защитную функцию, удаляя аутореактивные Т-лимфоциты-киллеры, ограничивая тем самым деструкцию собственных клеток и тканей организма [27]. При созревании иммунной системы роль апоптоза сводится к удалению аутореактивных клонов Т- и В-лимфоцитов, что предупреждает срыв толерантности и развитие аутоиммунитета. В то же время лимфоцитарные клоны, распознающие антигены, не встречающиеся в жизни человека, не имеют функционального значения и апоптозируют [14].

Бронхиальная астма является глобальным и быстро прогрессирующим **мультифакторным** заболеванием [28,29], которым страдает более 300 млн. жителей планеты и предполагается, что в течение следующих двух десятилетий распространенность бронхиальной астмы существенно возрастет [28]. В некоторых странах эта болезнь является главной причиной инвалидизации и смертности населения, опережая даже сердечно-сосудистые и онкологические патологии. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ), смертность от нее за последние 8 лет возросла более чем на 30 %.

Апоптоз и бронхиальная астма

В настоящее время активно изучается роль апоптотического механизма иммуносупрессии в патогенезе бронхиальной астмы (БА). Повышенный интерес обусловлен концептуальной версией, согласно которой в основе иммунных заболеваний лежит чрезмерная активация иммунокомпетентных клеток, которая приводит к накоплению аутореактивных клонов (позитивная активация и отсутствие апоптоза) [30].

Атопическая бронхиальная астма (АБА) рассматривается как хроническое аллергическое воспаление бронхов, обусловленное стимуляцией различными аллергенами антигенпрезентирующих и иммунокомпетентных клеток, активацией клона Т-лимфоцитов-хелперов второго типа (Th-2), с последующей активацией цитокинов и продукцией плазматическими клетками специфических антител класса IgE [30].

Современная концепция данного заболевания основывается на представлении о ключевой роли персистирующего воспаления бронхиального дерева, следствием которого являются типичные симптомы болезни – приступы экспираторного удышья, одышка, кашель [31]. Отличительной особенностью воспаления при БА является его эозинофильный характер. Специфический воспалительный процесс в бронхиальной стенке при астме, характеризуется увеличением в слизистой оболочке и просвете бронхиального дерева активированных эозинофилов, тучных клеток, макрофагов и Т-лимфоцитов [30].

Интерлейкин-5 (ИЛ-5) является ключевым медиатором в патогенезе заболеваний, характеризующихся эозинофильным воспалением [32]. Инициируя позднюю фазу воспаления, эозинофилы приводят к развитию бронхиальной гиперреактивности. Воспаление респираторных путей характеризуется потерей клеток эпителия бронхов, которое сопровождается ДНК-фрагментацией и характерными изменениями, присущими апоптозу, и этот процесс активируется Т-клетками и эозинофилами. Предполагают, что апоптотическая гибель большинства Т-лимфоцитов связана с их миграцией в результате антигенного воздействия, то есть апоптоз Т-клеток представляется как механизм антигенуправляемой селекции лимфоцитов [33]. Пролонгацию аллергического воспаления при БА связывают с усилением выживаемости Т-лимфоцитов и утратой ими способности к апоптозу [33], что проявляется в замедлении процессов фрагментации ДНК этих клеток. Показано, что ИЛ-5 эффективно и специфично направляет эозинофилы на расширение хемотактической чувствительности и пролонгирование их выживаемости в тканях-мишениях, блокируя апоптоз [32,34].

У больных астмой наблюдается тенденция развития прогрессирующего нарушения легочной функции, связанной с возрастом, полом, продолжительностью и тяжестью болезни. Как отмечалось выше, апоптоз играет центральную роль в развитии гомеостаза и функции иммунной системы. Среди маркеров апоптоза наиболее изученным является клеточный рецептор CD95 (Fas), по которому судят об активации иммунных клеток и их готовности к Fas-индукционному апоптозу, в том числе при аллергической патологии [35]. В здоровых дыхательных пу-

тях, гладкие мышечные клетки сосудов и бронхиальный эпителий экспрессируют Fas-белок, относящийся к суперсемейству TNF-рецепторов (также называемый Аро-1 или CD95), который активирует апоптоз через связывание Fas с Fas-лигандом, (FasL) что является основным механизмом бронхиального гомеостаза [36]. При астме сигнал, который стимулирует reparационные механизмы тканевого гомеостаза может служить выключателем, индуцирующим клеточную пролиферацию и ингибирующим апоптоз [31]. Продолжительная выживаемость клеток воспаления может влиять на развитие симптомов респираторных заболеваний. Тяжесть астмы имеет противоположную корреляцию с апоптозом эозинофилов в дыхательных путях [30].

При астме в периферических Т-лимфоцитах замечена высокая экспрессия маркеров активации, таких как б-цепь рецептора интерлейкина-2 (CD25), и лейкоцитарного антигена человека (HLA)-DR [37]. Известно, что ИЛ-2 в отношении активированных Т-лимфоцитов может выступать в качестве как антиапоптотического, так и проапоптотического цитокина [32]. Проапоптотическое действие ИЛ-2 заключается в том, что он способен стимулировать входжение Т-лимфоцитов в пролиферацию, повышать их чувствительность к апоптозу за счет усиления образования DISC-комплекса и подавление образования ингибитора апоптоза C-FLIP. Под влиянием ИЛ-2 возрастает индукция клеточных рецепторов и образование FasL и TNF-б [32]. Антиапоптотическое действие ИЛ-2 объясняется вовлечением в процесс апоптоза гуанин-нуклеотидсвязывающих белков семейства Rho с последующей активацией киназы РВК/Akt, подавляющей каспазный каскад путем блокирования взаимодействия каспаз с Araf-1 и активацией ингибиторов апоптоза [32]. Для объяснения вышеуказанных эффектов ИЛ-2 предложена теория обратной связи в контроле апоптоза Т-лимфоцитов. Согласно этой теории, ИЛ-2 вызывает повышение чувствительности Т-лимфоцитов к апоптозу. Дальнейшая судьба клетки определяется уровнем антигенного воздействия. При отсутствии антигенного воздействия уровень ИЛ-2 и его клеточного рецептора падает, и Т-клетки подвергаются «пассивному апоптозу», связанному с дефицитом вышеуказанного лимфокина. Этот путь связан с митохондриями и является нормальным

путем ограничения иммунного ответа *in vivo* [20,21]. «Пассивный апоптоз» Т-клеток может угнетаться цитокинами, имеющими общую YС-цепь. Это, например, ИЛ-2, ИЛ-4, а также ИЛ-7, ИЛ-15, ИЛ-21.

«Активный апоптоз» наблюдается при при избытке антигенного воздействия (например, при фазе обострения БА) и является механизмом, ограничивающим гиперактивацию антиген-специфического клона эффекторных клеток. Выше мы указывали, что апоптоз в большинстве случаев осуществляется благодаря взаимодействию рецепторов Fas/CD95 с его лигандами FasL, которые экспрессируются лимфоцитами в процессе их стимуляции антигеном. Вместе с тем, экспрессия Fas в периферических лимфоцитах возрастает благодаря влиянию интерферона-г и ИЛ-2 [38]. Характер указанных взаимоотношений в определенной степени объясняет, сочетание низкой продукции ИЛ-2 и невысоких показателей концентрации CD95-позитивных лимфоцитов у больных БА в фазе ремиссии, выявленное рядом авторов.

Исследования последних лет показали, что манипулирование различными рецепторами может препятствовать процессу апоптоза или усиливать апоптоз [6,9,15]. Ранее было отмечено, что FasL-белковый лиганд индуцирует апоптоз путем связывания с Fas-клеточными рецепторами, или с аденин фосфорибозилтрансферазой 1 (APT1) – семейством рецепторов, которые включают 2 рецептора фактора некроза опухоли (TNF) [39]. Астма также ассоциируется с дефектной активацией апоптоза Т-лимфоцитов через receptor клеточной смерти. Избирательная резистентность к FAS-зависимому апоптозу с CD40 Т-лимфоцитами астматических больных имеет непродуктивную активацию передачи Fas сигнала, которое влияет на Т-клеточнозависимое иммунновоспаление [33]. Высказано предположение, что астма развивается в результате понижения элиминации активированных Т-лимфоцитов и повышения числа Т-клеток и их активации [37]. Таким образом, Т-клеточный фенотип, постоянно присутствующий у астматиков, приводит к отличию от наследуемых дефектов в Fas гене, что приводит к аутоиммунному заболеванию [39].

Гамма-интерферон (ИФ-г) - провоспалительный цитокин, как известно, играет важную роль в регулировании пролиферации и апоптоза Т-лим-

фоцитов [38]. Исследования показали, что ИФ-г ингибирует пролиферацию аллерген-стимулированных CD40 Т-лимфоцитов путем индуцирования поверхностной экспрессии Fas и FasL, что приводит к активации апоптической программы у больных с атопией и астмой. У больных астмой с аллергическим ответом этот дефект в синтезе ИФ-г может быть причиной ослабленного апоптоза аллерген-активированных Т-лимфоцитов [40]. Пониженный синтез CD40 Т-лимфоцитов в результате преждевременного апоптоза приводит к дисбалансу воспалительного процесса при астме [41].

Многие исследования показали эффект стероидов на различные клеточные белки и рецепторы клеточной смерти [16,17,25]. Использование стероидов понижает аллергический ответ у астматиков, стимулируя снятие эозинофильного воспаления. Стероиды также увеличивают выживаемость эпителиальных клеток и пролиферацию через потенциальную экспрессию интегрального мембранный белка Bcl-2 и пролиферацию ядерного антигена клетки [42]. Было показано, что вдыхаемые стероиды независимо от их применения в отдельности или в комбинации с оральными стероидами, приводят к понижению экспрессии ядерного рецептора PPAR γ в пролиферации клетки и запаса коллагена при увеличении числа апоптозных клеток в эпителии и субмукозном слое легких. Это делает PPAR γ целью для стероидной терапии астматиков.

Исследование маркеров апоптоза у больных БА показало, что этот биологический процесс изменен как при обострении, так и фазе ремиссии заболевания [40,41]. В частности, при обострении БА увеличивается количество CD95-позитивных клеток. Уменьшение их числа происходит в процессе терапии глюкокортикоидами [42-44]. Авторами также выявлено, что в фазе обострения БА наблюдается снижение апоптического индекса ядер эффекторных клеток индуцированной мокроты и его повышения на фоне противовоспалительной терапии. Сниженная индукция апоптоза у больных БА повышается под влиянием ИЛ-4 [43]. Отмечено, что клетки (лимфоциты, эозинофилы, нейтрофилы) больных атопической формой БА устойчивы к процессам спонтанного апоптоза, и именно воздействием на данный процесс может быть объяснена терапевтическая эффективность глюкокортикоидов [44].

Применение кортикоидов приводит к активации каспаз и включаетprotoонкогены (Bcl-2), приводящие к активации апоптоза [44]. Например, показано, что дексаметазон индуцирует апоптоз Т-лимфоцитов и повышает концентрацию в плазме растворимой формы Fas у больных аллергической астмой [45]. Один из широко используемых стероидов – теофиллин активирует интерлейкин-3 (ИЛ-3) в эозинофилах, индуцируя апоптоз [4]. Другой стероид флютиказон [46] через уменьшение количества Т-лимфоцитов регулирует уровень цитокина - интерлейкина -15 (ИЛ-15). Таким образом, кортикоиды могут стимулировать апоптоз через различные механизмы и регулируют воспалительный процесс в дыхательной системе больных БА [44,46]. Биохимические изменения при апоптозе включают транслокацию мембранный фосфолипида внутренней стороны цитоплазматической мембранны фосфатидилсерина на ее внешнюю сторону [6]. Аннексин 5 (AnnexinV) – представитель семейства кальций-зависимых фосфолипидсвязывающих протеинов, имеющий высокую аффинность к фосфатидилсерину, связывается с клетками, экспрессирующими этот фосфолипид, и ингибирует прокаогулянтную и провоспалительную активности гибнущих клеток [47]. Аннексин 5, коньюгированный с флюорохромом, можно использовать как маркер апоптоза. При изучении содержания растворимых мембранных рецепторов активации, модулирующих процессы апоптоза - sCD30, sCD40, sCD95, sFasL, APO-2L и аннексина были установлены достоверные отличия концентрации указанных показателей у больных БА по сравнению со здоровыми людьми. Содержание аннексина 5 у детей с БА была в 5 раз ниже, чем у здоровых детей [47].

В патогенезе АБА важное место занимает вторичная иммуносупрессия, в развитии которой предполагается нарушение апоптотических процессов, в частности, связанная с эффектом негативной активации [31].

Вигнола с соавторами [48] с применением иммуногистохимического и TUNEL методов показали наличие апоптотических эозинофилов, макрофагов и лимфоцитов в тканях дыхательных путей здоровых людей и больных хроническим бронхитом. При исследовании апоптоза и экспрессии апоптоз-регулирующих молекул в эозинофилах и лимфоцитах тканей дыхательных путей

у здоровых людей и двух групп больных бронхиальной астмой (получавших и не получавших стероиды) было установлено наличие TUNEL-положительных эозинофилов и лимфоцитов во всех трех исследованных группах, но не обнаружено достоверной разницы между группами [42].

Было установлено, что у больных различными формами атопической бронхиальной астмы (легкая, средняя и тяжелая персистирующая астма) процесс апоптоза лимфоцитов имеет структурные и биохимические особенности [49]. У больных легкой и средней персистирующей астмой на фоне торможения апоптоза повышается количество пролиферирующих лимфоцитов (отмечается лимфопролиферативный эффект). Для лимфоцитов больных тяжелой персистирующей астмой характерно нарушение клеточного деления лимфоцитов (митотической активности) [50]. Установлено также, что начальные этапы апоптоза, выраженные через взаимосвязь между числом клеток со сниженным митохондриальным потенциалом и экспрессией фосфатидилсерина на поверхности Т-лимфоцитов не претерпевают серьезных отличий в норме и при патологии. Нарушения апоптоза затрагивают заключительный этап на стадии деградации ДНК. У больных с тяжелой персистирующей астмой апоптоз идет по пути программированного некроза, сопровождающегося развитием альтерации окружающих клеток и воспаления, а фагоцитоз остатков погибших клеток – развитием иммунного ответа, если в них имеются антигены хроматин-содержащие элементы клеток. Было высказано предположение, что при определенных условиях процесс реализации одной программы гибели на каких-то этапах, например, начавшаяся аутофагия может смениться апоптозом, а апоптоз – завершиться постапоптотическим некрозом [49].

При анализе продуктов распада ДНК лимфоцитов крови здоровых лиц и больных астмой было выявлено, что ДНК ядер лимфоцитов больных тяжелой персистирующей астмой более деградирована. ДНК ядер лимфоцитов легкой персистирующей астмы содержит высокомолекулярные продукты (30000-50000 п.о.) по сравнению с ДНК, выделенной из контрольных препаратов (примерно, 20000-25000 п.о.) Анализ продуктов распада ДНК лимфоцитов больных астмой обнаружил слабую межнуклеосомную деградацию ДНК хроматина. Наибольшую устой-

чивость проявляла ДНК лимфоцитов больных легкой персистирующей астмой [49,50].

Резюмируя изложенное можно сделать вывод, что апоптоз является одним из важнейших общебиологических механизмов регуляции численности клеток и поддержания тканевого гомеостаза. Нарушение регуляции апоптоза приводит к возникновению заболеваний, связанных с усилением или, наоборот, ингибированием апоптоза. Бронхиальная астма, механизм реализации которой определяется сложным взаимодействием медиаторов, клеток и факторов межклеточных взаимодействий, относится к группе заболеваний, где центральную роль в регуляции клеточного баланса иммунокомпетентных клеток играют процессы апоптоза. Бронхиальная астма является хроническим аллергическим воспалением бронхов, обусловленное стимуляцией различными аллергенами иммунокомпетентных клеток, активацией клона Т-лимфоцитов-хелперов второго типа (Th-2) с последующей активацией цитокинов и продукцией плазматическими клетками специфических антител класса IgE [12,31]. Многочисленными исследованиями показано, что центральную роль в регуляции Th1/Th2-клеточного баланса играет цитокиновый профиль, однако в направленности поляризации Th1- и Th2-лимфоцитов существенное значение принадлежит процессу апоптоза, что свидетельствует о важном вкладе процесса апоптоза в патогенезе и регуляции атопической БА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов Л.С., Корочкин Л.И. Генетическая программированная смерть клеток (апоптоз) // Генетика. 2004. №2. С.149-162.
2. Белушкина Н.Н., Северин С.Е. Молекулярные основы патологии апоптоза // Архив патологии. 2001. №1. С.51-59.
3. Швембергер И.Н. Апоптоз: роль в нормальном онтогенезе и патологии // Вопросы онкологии. 2002. №2. С.153-157.
4. Magno G., Joris I. Apoptosis, oncosis, necrosis // Amer.J.Pathol. 1995. V.146. №1. P.13-15.
5. Renahan A.G., Booth C., Potten C.S. What is apoptosis, and why is it important? // BMJ. 2001. V.322. №7301. P.1536-1538.
6. Bredesen D.E. Apoptosis: overview and signal transduction pathways // J. Neurotrauma. 2000. V.17. №1. P.801-810.
7. Pierse J.D., Pierse J., Stremming S., Fakhari M., Clancy R.L. The role of apoptosis in respiratory diseases // Clinical Nurse Specialist. V.21.N.1.P.22-28.

8. Yu J., Zhang L. Apoptosis in human cancer cells// Curr. Opin. Oncol. 2004. V.16. №1. P.19-24.
9. Zornig M., Hueber A., Baum W., Evan G. Apoptosis regulators and their role in tumorigenesis // Biochim. Biophys. Acta. 2001.V.1551.N.2. P.F1-F37.
10. Afford S., Randhava S. Apoptosis // Mol. Pathol. 2000.V.53. N.2. P.55-63.
11. Saraste A., Pulkki K. Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis// Cardiovasc. Res. 2000.V.45.N.3. P.528-537.
12. Strasser A., O'Connor L., Dixit V.M. Apoptosis signaling //Annu. Rev. Biochem. 2000.V.69. P.217-245.
13. Takahashi A. Caspase: executioner and undertaker of apoptosis // Int. J. Hematol. 1999.V.70.N.4.P.226-232.
14. Demedts I.K., Demoor T., Bracke K.J., Joos G.F., Brusselle G.G. Role of apoptosis in the pathogenesis of COPD and pulmonary emphysema // Respiratory Research.2006. V.7.N.7. P.1-10.
15. Degterev A., Boyce M., Yuan J. A decade of caspases // Oncogene. 2003. V.22. P.8543-8567.
16. Mehlen P., Thibert C. Dependence receptors: between life and death //Cell Mol. Life Sci. 2004. V.61. N.15. P.1854-1866.
17. Malaguarnera L. Implications of apoptosis regulators in tumorigenesis //Cancer Metastasis Rev. 2004. V.23. N.34 P.367-387.
18. Muzio M., Stockwell B.R., Stennicke H.R., Salvesen G.S., Dixit V.M. An induced proximity model for caspase-8 activation //J.Biol.Chem.1998. V.273.P.2926-2930.
19. Darmon A.J., Nicholson D.W., Bleackley R.C. Activation of the apoptotic protease CPP32 by cytotoxic T-cell-derived granzyme B //Nature. 1995. v.377.P.446-448.
20. Mayer B., Oberbauer R. Mitochondrial regulation of apoptosis // News Physiol. Sci. 200. V.18.P.89-94
21. Olson M., Kornbluth S. Mitochondria in apoptosis and human disease // Curr. Mol.Med. 2001. V.1. N.1. P.91-122.
22. Szegezdi E., Fitzgerald U., Samali A. Caspase 12- and ER-stress-mediated apoptosis: the story so far// Ann.N.Y.Acad.Sci. 2003. V.1010.P.186-194.
23. Antonsson B., Montessuit S., Sanchez B., Martinou J.C. Bax is present as a high molecular weight oligomer/complex in the mitochondrial membrane of apoptotic cells // J. Biol. Chem. 2001. V.276. N.15. P.11615-11623.
24. Huppertz B., Frank H.G., Kaufmann P. The apoptosis cascade morphological and immunohistochemical methods for its visualization// Anat. Embryol (Berl). 1999. V.200. N.1. P.1-18.
25. Kaufmann S.H., Hengartner M.O. Programmed cell death: alive and well in the new millennium// Trends Cell. Biol. 2001. V.11. N.12. P.526-534.
26. Green D.R. Overview: apoptotic signaling pathways in the immune system // Immunol. Rev. 2003. V.193. P.5-9.
27. Behnia M., Robertson K.A., Martin W.J. 2nd. Lung infections: role of apoptosis in host defense and pathogenesis of disease // Chest. 2000. V.117. N.6.P.1771-1777.
28. Фрейдин М.Б., Брагина Е.Ю., Огородова Л.М., Пузырев В.П. Генетика атопии: современное состояние // Вестник ВОГиС. 2006.T.10.№3.C.492-503.
29. Koppelman G.H. Gene by environment interaction in asthma // Curr.Allergy Asthma Rep. 2006. N.6. P.103-111.
30. Kay A.B. The role of T-lymphocytes in asthma. // Chem.Immunol. Allergy. 2006. N.91.P.59-75.
31. Holt P.G. Key factors in the development of asthma:atopy. //Am.J.Respir.Crit.Care Med. 2000. V.161. N.3.pt.2. P. S172-175.
32. Jayaraman S., Castro M., O'Sullivan M., Bragdon M.J., Holtzman M.J. Resistance to Fas-mediated T-cell apoptosis in asthma // J. Immunol. 1999. V.162. N.3. P.1717-1722.
33. Corrigan C.J. Cytokines (Interleukines) // In: Kay A.B., Ed. Allergy and allergic diseases. Oxford:Blackwell Science, 1997.V.2. P.340-364.
34. Todo-Bom A., Mota Pinto A., Alves V., Pereira S.V., Santos M.R. Apoptosis and asthma in the elderly // J.Invest.Allergol.Clin.Immunol. 2007.V.172 (2). P.107-112.
35. Fisher G.H., Rosenberg F.J., Straus S.E. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome // Cell. 1995. V.81.N.6. P.935-946.
36. Rieux-Lauca F., Le Deist F., Hivroz C. Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity //Science. 1995.V.268.N.5215. P.1347-1349.
37. Holtzman M.J., Look D.C., Sampath D., Castro M., Koga T., Walter M.J. Control of epithelial immune-response genes antimplications for airway immunity and inflammation / / Proc. Assoc. Am. Physicians. 1998. V.110.N.1. P.1-11.
38. Novelli F., DiPierro F., Francia di Celle P. Environmental signals influencing expression of the IFN-gamma receptor on human T cells control whether IFN-gamma promotes proliferation or apoptosis // J. Immunol. 1994. V.152.V.2. P.496-504.
39. Rieuux-Lauca F., Le Feist F., Hivroz C. Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity // Science. 1995. V.268. N.5215. P.1347-1349.
40. De Rose V., Cappello P., Sorbello V. IFN-gamma inhibits the proliferation of allergen-activated T lymphocytes from atopic, asthmatic patients by inducing Fas/FasL-mediated apoptosis //J.Leukoc.Biol. 2004. V.76.N.2. P.:423-432.
41. Cormican L., O'Sullivan S., Burke C.M., Poultre L.W. IFNgamma but not IL-4 T cells of the asthmatic bronchial wall show increased incidence of apoptosis // Clin. Exp. Allergy. 2001.V.31.N.5. P.731-739.
42. Druilhe A., Wallaert B., Tsicopoulos A. Apoptosis, proliferation, and expression of Bcl-2, Fas, and Fas ligand in bronchial biopsies from asthmatics // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 1998.V.19. N.5. P.747-757.
43. Benayoun L., Letuve S., Druilhe A. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression in human asthmatic airways: relationship with proliferation, apoptosis, and airway remodeling// Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2001.V.164(8 Pt 1). P.1487-1494.
44. White S.R., Dorscheid D.R. Corticosteroid-induced apoptosis of airway epithelium: a potential mechanism for chronic airway epithelial damage in asthma // Chest. 2002.V.122(6 suppl). P.278S-284S.
45. Ho C.Y., Wong C.K., Ko F.W. Apoptosis and B-cell lymphoma-2 of peripheral blood T lymphocytes and soluble fas in patients with allergic asthma // Chest. 2002.V.122(5). P.1751-1758.
46. O'Sullivan S., Cormican L., Burke C.M., Poultre L.W. Fluticasone induces T cell apoptosis in the bronchial wall of mild to moderate asthmatics // Thorax. 2004.V.59(8).P.657-661.

47. Gerke V., Moss S.E. Annexins: from structure to function // *Physiol. Rev.* 2002. V.82. P.331-371.

48. Vignola A.M., Chanez P., Chiappara G., Siena L., Merendino A. Evaluation of apoptosis of eosinophils, macrophages, and T lymphocytes in mucosal biopsy specimens of patients with asthma and chronic bronchitis // *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999. V.103.P.563-573.

49. Пинчук Ю.В., Водунон А.С., Абрамова З.И., Исангу М.М.Д., Мустафин И.Г., Пономарева А.А. Биохимические и морфологические изменения лимфоцитов при апоптозе у больных атопической бронхиальной астмой // Вестник Оренбургского государственного университета. 2008. №11. С.156-161.

50. Исангу М.М.Д., Водунон А.С., Абрамова З.И., Лунцов А.В., Цибулькина В.Н. Особенности морфологических показателей и количественной оценки лимфоцитов периферической крови больных атопической бронхиальной астмой // Казанский медицинский журнал. 2007. Т.88. №2. С.182-185.

Резюме

Апоптоз клеткалар санын, жасушалар гомеостазын және иммундық жүйенің қызметін реттеуде жалпыбиологиялық механизм ретіндегі маңызды орын алады. Апоптозды реттеу механизмдерінің қалыпты жұмысының бұзылуы клетканың бағдарланған өлімінің мүлдем жо-

йылуына немесе керісінше қүшесінде байланысты болатын аурулар тудырады. Демікпе (астма) ауруы, иммунокомпетенттік Т-клеткалардың балансын қалпына келтірудегі реттеу басты қызметті апоптоз атқарған кездегі болатын аурулар катарына жатады. Аурудың даму патогенезінің негізгі себептерінің ішінде клеткалар популяцияның саны және клеткааралық байланыстардың реттелуі апоптозға байланысты. Осы әдебиеттік шолуда демікпе ауруының даму процесінде иммундық клеткаларда болатын апоптоздың ролі және оны реттеу жолдары айқындалып көрсетілген.

Summary

Apoptosis plays a central role in the development, cell number regulation, homeostasis, and function of the immune system. Recent studies have demonstrated that the manipulation of different receptors can accelerate apoptosis. Bronchial asthma has been associated with a defective activation of T-cell apoptosis through the FAS death receptor. This review specifically outlines different apoptotic pathways related to atopic bronchial asthma. Recent data on the role of apoptosis in bronchial asthma is discussed. The aim is to provide an up to date summary on the increasing knowledge on the role of apoptosis in bronchial asthma.

Поступила 29.07.09