

## АПОПТОЗ ПРИ КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

А. М. Голубев<sup>1</sup>, Е. Ю. Москалева<sup>2</sup>, С. Е. Северин<sup>2</sup>, Т. П. Веснянко<sup>2</sup>,  
А. Н. Кузовлев<sup>1</sup>, А. С. Алкадарский<sup>1</sup>, Г. Г. Порошенко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва

<sup>2</sup> ГУЗ Московский НИИ медицинской экологии Департамента здравоохранения, Москва

### Apoptosis in Critical Conditions

A. M. Golubev<sup>1</sup>, E. Yu. Moskaleva<sup>2</sup>, S. E. Severin<sup>2</sup>, T. P. Vesnyanko<sup>2</sup>,  
A. N. Kouzovlev<sup>1</sup>, A. S. Alkadarsky<sup>1</sup>, G. G. Poroshenko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

<sup>2</sup> Moscow Research Institute of Medical Ecology, Department of Public Health, Moscow

Апоптоз — вариант программируемой гибели клетки. Данный термин ввел Керр (Kerr) и соавт. в 1972 г., но информация о важной роли апоптоза отдельных клеток при критических состояниях появилась лишь в последние годы. В обзоре литературы рассмотрены основные механизмы индукции, развития и регуляции апоптоза. На основе современных данных литературы проанализирована роль апоптоза в патогенезе различных критических состояний: острого повреждения легких (нейтрофильная и эпителиальная гипотезы), сепсиса, инфаркта миокарда и ишемического инсульта (апоптоз при ишемии-реперфузии), острой почечной недостаточности (апоптоз клеток тубулярного эпителия), дисфункции печени при сепсисе, миопатий при критических состояниях. Приведены данные исследований о влиянии ингаляционных и неингаляционных анестетиков на апоптоз нейронов головного мозга и лимфоцитов. В обзоре литературы приводятся варианты терапевтического модулирования апоптоза при помощи фармакологических методов. *Ключевые слова:* апоптоз, критические состояния.

Apoptosis is a variant of programmed cell death. This term was introduced by Kerr et al. in 1972, but information on the important role of apoptosis of some cells in critical conditions has recently appeared. The review of literature considers the basic mechanisms of induction, development, and regulation of apoptosis. Based on a literature update, the authors analyze the role of apoptosis in the pathogenesis of various critical conditions: acute lung lesion (neutrophilic and epithelial hypotheses), sepsis, myocardial infarction, and ischemic stroke (apoptosis of tubular epithelial cells), hepatic dysfunction in sepsis, myopathies in critical conditions. The data of studies dealing with the effects of inhaled and non-inhaled anesthetics on the apoptosis of neurons of the brain and lymphocytes are given. The review of literature presents the options of therapeutic apoptosis modulation by pharmacological methods. *Key words:* apoptosis, critical conditions.

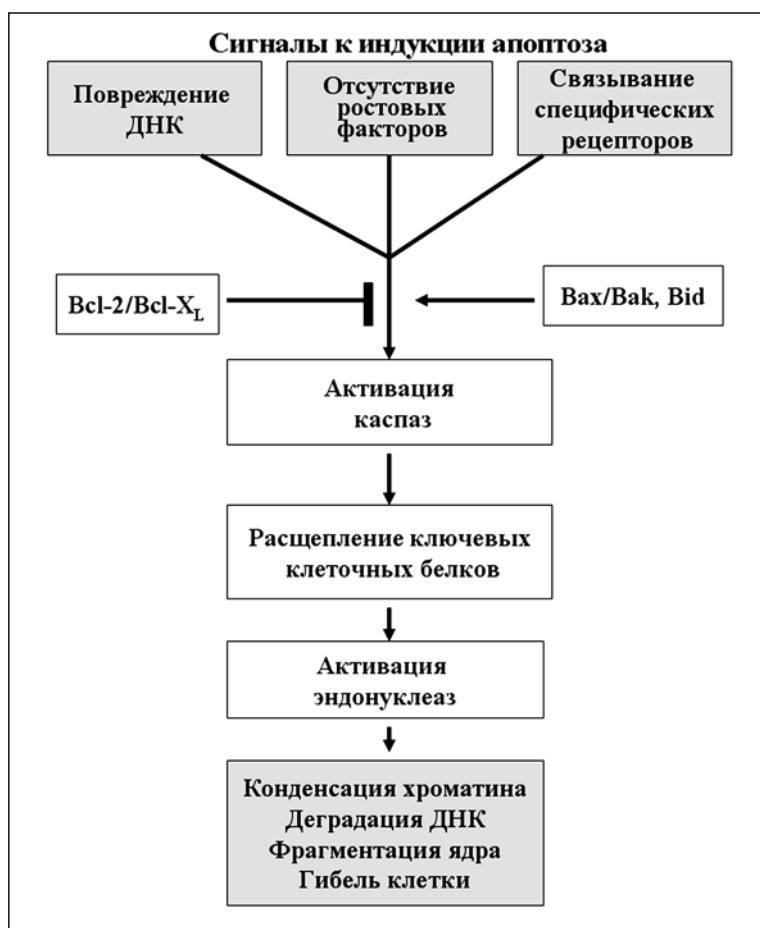
Критические состояния нередко ведут к развитию полиорганной недостаточности (ПОН), в основе которой лежит повреждение клеток различных органов под влиянием факторов эндогенной и экзогенной природы. ПОН наблюдается при травме, кровопотере, шоке, отравлениях, сепсисе, нарушениях кровообращения и т. д. Одним из механизмов гибели клеток при ПОН является апоптоз.

Впервые понятие апоптоз было предложено Керр (Kerr) и др. в 1972 г. [1], как основного механизма умирания клеток. В 2002 г. С. Бреннеру, Р. Горвицу, Д. Салстону была присуждена Нобелевская премия «за открытия, посвященные изучению генетической регуляции развития органов и запрограммированной клеточной смерти». Генетическая регуляция апоптоза осуществляется большим набором генов. Основные представления о механизмах индукции и регуляции апоптоза, обобщались в ряде обзоров [2–5].

Одним из ответов клетки на действие повреждающих факторов является активация суицидной программы, получившей название про-

граммируемой гибели клетки (ПГК). К вариантам ПГК относятся апоптоз, некроз и аутофагия.

В процессе развития апоптоза выделяют следующие стадии (см. рисунок): формирование внутриклеточных сигналов индукции апоптоза, который может быть блокирован или ускорен с участием белков семейства BCL-2, IAP и некоторых других белков, фазу готовности к апоптозу, характеризующуюся нарушением функции митохондрий (МХ) и эндоплазматического ретикулума (ЭР), и фазу развития апоптоза. В этой стадии отмечается активация апоптоз-специфических протеаз — каспаз, деградация белков, ДНК и гибель клетки. Действие каспаз приводит к расщеплению жизненно важных белков клетки, субмембранных и цитоплазматических микрофиламентных и микротрубоччатых структур, а также ингибитора ДНКазы, что приводит к фрагментации ДНК. Совокупность этих событий приводит к формированию мембранных везикул, включающих элементы внутриклеточного содержимого (митохондрии, рибосомы).



Стадии развития апоптоза.

Инициация (индукция) апоптоза осуществляется по двум различным механизмам: экстраклеточному (внешнему) или внутреннему.

Внешний путь индукции апоптоза начинается со связывания специфических лигандов (TNF $\alpha$ , FASL и др.) с рецепторами плазматической мембраны, цитоплазматические участки которых содержат домены смерти. Образующийся комплекс молекул носит название Сигнального Комплекса, индуцирующего гибель клетки (Death-Inducing Signaling Complex, DISC) [6]. Последующая активация каспазы-8 ведет к активации эффекторных каспаз-3 и 7 и последующей гибели клетки. *Fas* экспрессируется на поверхности клеток многих типов: тимоцитах, лимфоцитах, активированных Т- и В-лимфоцитах, фибробластах, гепатоцитах, кератиноцитах, миелоидных клетках. Ген *fas* у человека локализуется в длинном плече хромосомы 10. *Fas-L* представлен на мембране некоторых клеток, например, цитотоксических лимфоцитов, и, кроме того, может присутствовать в виде свободного белка, является цитокином и относится к семейству фактора некроза опухоли (Tumor Necrosis Factor, TNF $\alpha$ ).

Внешний путь активации апоптоза может иметь место и при развитии эксайтотоксичности (от англ. excite — возбуждать). Основой этого фе-

номена является нарушение проницаемости ионотрофных рецепторов, регулирующих содержание калия, натрия, хлора и кальция во вне- и внутриклеточном пространстве. Результатом активации ионотрофных рецепторов является повышенный вход кальция в клетку с последующей активацией протеаз и разрушением клеточных структур. Этот процесс сопровождается также возрастанием перекисного окисления липидов и развитием окислительного стресса.

По типу передачи сигналов индукции апоптоза от рецепторов следует различать два типа клеток: в клетках I типа (пример — лимфоциты) уровень активации каспазы-8 достаточен для активации каспазы-3, а в клетках II типа (пример — гепатоциты) для полной активации каспаз необходима амплификация сигнала с вовлечением повреждения МХ [7, 8].

Другой вариант индукции апоптоза осуществляется через рецепторы зависимости (РеЗз), передающие сигналы, обеспечивающие выживаемость, дифференцировку или миграцию клетки при связывании с определенным лигандом (нейротрофины, андрогены и др.). При отсутствии лиганда индуцируется процесс апоптоза по каспаза-зависимому пути [9].

Внутренний путь индукции апоптоза обусловлен повреждением внутриклеточных структур, прежде всего, МХ и ДНК. МХ являются основным местом образования активных метаболитов кислорода (АМК, супероксидного аниона, свободного гидроксильного радикала, пероксида водорода) при действии острого и хронического стресса [10]. Образование АМК играет важную роль в индукции ПГК при многих патологических процессах, в том числе при отсутствии необходимых факторов роста клеток, действии ионизирующего и УФ-излучения, действии цитотоксических препаратов. В МХ содержится несколько апоптогенных факторов: цитохром С [11], AIF (Apoptosis Inducing Factor) [12], эндонуклеаза G [13], белки SMAC/DIABLO и OMI/HTRA2 [14, 15]. Цитохром С, высвобождаясь в цитоплазму, вызывает образование апоптосомы: высокомолекулярного комплекса, активизирующего каспазу-9. AIF из МХ транслоцируется в ядро при действии апоптотического сигнала, где индуцирует фрагментацию ДНК и конденсацию периферического хроматина. Эндонуклеаза G при апоптозе также транслоцируется из МХ в ядро и вызывает дегградацию ДНК независимо от каспаз или дезоксирибонуклеазы. SMAC/DIABLO — митохондри-

альный проапоптотический белок, транспортирующийся при действии индукторов апоптоза в цитоплазму и связывающий белки семейства IAP (Inhibitor of Apoptosis Proteins), которые ингибируют каспазы. OMI/HTRA2 — сериновая протеаза, локализуемая в МХ. При индукции апоптоза этот белок высвобождается в цитоплазму и участвует в регуляции как каспаза-зависимого, так и каспаза-независимого пути развития апоптоза, а также блокирует связывание IAP с каспазами.

Выход апоптогенных белков из МХ при индукции апоптоза объясняют разрывом наружной мембраны МХ или открытием пор временной проницаемости — Permeability Transition Pores (PTP) [16]. Образование PTP регулируется белками семейства BCL-2 и изменением концентрации ионов кальция в матриксе МХ [17]. Открытие PTP способствует выходу апоптогенных факторов из МХ. Кроме этого, выходу апоптогенных факторов из МХ способствует образование специфического канала в наружной мембране МХ в результате встраивания в нее белков BAX и BAK с образованием пороподобных структур [18].

Повреждение ЭР также может индуцировать апоптоз, который обусловлен активацией каспазы-12 с последующей активацией каспазы-9 без участия цитохрома С [19, 20].

Индукция апоптоза с участием лизосом зависит от степени нарушения проницаемости лизосомной мембраны и количества попадающих в цитозоль протеолитических ферментов [21]. При недостаточном уровне в цитозоле цистатинов (эндогенных ингибиторов лизосомных гидролаз) обеспечивается индукция и реализация программы апоптоза. Протеазы лизосом повреждают мембраны МХ, способствуют выходу цитохрома С, других апоптогенных факторов и активации каспаз. Апоптоз развивается также при повреждении микротрубочек и актина цитоскелета [22, 23].

Индукция апоптоза при повреждении ДНК обусловлена появлением в клетке нерепарированных повреждений ДНК, которые приводят к активации протеинкиназ. Протеинкиназы фосфорилируют и активируют белковый фактор транскрипции p53. Активация p53 ведет к подавлению транскрипции генов антиапоптогенных белков (*bcl-2*, *NF-κB*) и активации p53-зависимой транскрипции генов проапоптотических белков BAX и FAS. Активация p53 приводит также к блоку клеточного цикла. Кроме этого, p53 ингибирует синтез ДНК, предотвращая инициацию репликации или образуя комплексы с белками, участвующими в синтезе и репарации ДНК [24, 25].

После индукции ПГК дальнейшая судьба клетки зависит от присутствия, активации или индукции многочисленных факторов, модулирующих этот процесс. Среди них наиболее важное зна-

чение имеют регуляторы апоптоза семейств BCL-2 и IAP. Белки семейства BCL-2 делят на три подгруппы: BCL-2-подобные факторы выживания, BAX-подобные факторы, способствующие гибели клетки и факторы гибели, имеющие только BH3 домен и получившие название «BH3-только» [26].

Многие индукторы апоптоза приводят к активации белков BAX и BAK и последующему нарушению целостности мембраны МХ. Проапоптотические белки «BH3-только» активируют Bax и BAK. Цитотоксическое действие белков «BH3-только» обусловлено блокадой защитной функции белка BCL-2 в результате белок-белковых взаимодействий BCL-2 и «BH3-только». Белки «BH3-только» являются теми сенсорами, которые активируются при различных типах повреждения и определяют формирование внутриклеточных сигналов, инициирующих апоптоз [26].

В механизмах регуляции апоптоза важная роль принадлежит белкам семейства IAP [27]. Идентифицировано 8 белков этого семейства, которые ингибируют каспазы 3, 7 и 9. Помимо ингибирования каспаз, белки семейства IAP могут ингибировать апоптоз, влияя на прохождение клеточного цикла, деление клеток и передачу сигнала апоптоза. Антиапоптотическая активность белков семейства IAP в клетке может подавляться специфическими белками-ингибиторами SMAC/DIABLO и OMI/HTRA2.

В адаптации клетки к условиям стресса важную роль играют белки теплового шока (Heat Shock Proteins, HSP) [28]. Синтез этих белков индуцируется в клетке при неблагоприятных условиях и обеспечивает защиту клетки от действия таких повреждающих факторов, как окислительный стресс, тепловой шок, алкоголь, действие факторов воспаления и т. д.) В зависимости от молекулярной массы HSP делят на шесть групп. HSP стабилизируют конформацию внутриклеточных белков и способствуют защите клеток от апоптоза, так как избыточное накопление денатурированных белков приводит к повреждению ЭР и индукции ПГК. В то же время, часть белков HSP обладает проапоптотической активностью, а часть — антиапоптотической, и уровень экспрессии тех или иных белков этой группы в значительной мере определяет судьбу клетки при действии тех стимулов, которые могут вызвать ее гибель [29].

Индукция ПГК имеет особенно значимые последствия для медленно обновляющихся тканей: нервной, мышечной, ткани печени и др. При инсульте, травме головного и спинного мозга, инфаркте миокарда, в очаге поражения при окклюзии или повреждении сосудов клетки быстро погибают в результате развития не некроза, а апоптоза. В тканях, окружающих зону поражения, основная масса клеток погибает более медленно в результате развития апоптоза. Пусковым событием в индукции апоптоза в этих условиях чаще все-

го является изменение проницаемости мембран МХ, связанное с образованием РТР.

В последние годы получены данные, свидетельствующие о важной роли повышения уровня апоптоза в патогенезе критических состояний.

#### **Острое повреждение лёгких (ОПЛ).**

**Апоптоз является обязательным компонентом ОПЛ.** В клетках БАЛЖ больных с ОПЛ выявляются различные маркеры апоптоза [30], а в БАЛЖ содержатся значительно более высокие концентрации растворимых FAS и FAS-L (SFAS и SFAS-L, соответственно) по сравнению с контрольной группой, причем данные белки высвобождаются именно в легких. Методом полуколичественной иммуногистохимии показано усиление экспрессии FAS и FAS-L у пациентов с ОПЛ: они экспрессируются на поверхности альвеолоцитов, нейтрофилов, макрофагов и слущенных эпителиальных клеток в просвете альвеол. При иммуногистохимических исследованиях в клетках БАЛЖ у пациентов с ОПЛ выявляются такие маркеры апоптоза, как каспаза-3, BAX, p53 и др. [30].

Апоптоз при ОПЛ рассматривается в рамках двух основных гипотез.

1. «Нейтрофильная» гипотеза предполагает, что гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ) подавляют апоптоз и, таким образом, продлевают жизнь нейтрофилов, которые повреждают легочную ткань. КСФ также стимулируют фагоцитоз тех нейтрофилов, которые подверглись апоптозу. В бронхоальвеолярной лаважной жидкости больных с острым респираторным дистресс-синдромом (ОРДС) [31] апоптоз нейтрофилов значительно подавлен на всех стадиях заболевания; та же ситуация наблюдается у пациентов с риском развития ОРДС. Более того, эта жидкость ингибирует апоптоз нейтрофилов *in vitro* [32, 33]. По мнению ряда авторов, угнетение апоптоза нейтрофилов может возникать в процессе диапедеза нейтрофилов через 2 слоя альвеоло-капиллярного барьера — эндотелиальный и эпителиальный, при котором снижается активность каспаз 3, 8 и 9, экспрессия FAS-L и рецептора TNF I типа [32]. В то же время, другие авторы указывают на защитную роль апоптоза, заключающуюся в уничтожении нейтрофилов при ОПЛ, которое позволяет избежать избыточного повреждения легких [31, 33]. Защитная роль апоптоза подтверждается еще и тем, что при удалении клеток, погибших в результате апоптоза, не выделяются противовоспалительные цитокины, в то время как при некрозе клеток развивается воспаление, обусловленное секрецией таких провоспалительных цитокинов, как интерферон- $\gamma$  и TNF $\alpha$  [34].

ИЛ-6, ИЛ-2, Г-КСФ, ГМ-КСФ, глюкокортикоиды снижают уровень апоптоза нейтрофилов, тогда как ИЛ-10, TNF $\alpha$ , FAS-L усиливают его. Выживаемость нейтрофилов при ОПЛ связана, главным образом, с эффектами ГМ-КСФ. Торможение апоптоза нейтрофилов обеспечивает сохранность их защитной функции и предотвращает развитие инфекционных осложнений, являющихся основной причиной смерти больных с ОПЛ. С другой стороны, в ряде работ было показано, что восстановление легких после ОПЛ связано с интенсивным апоптозом и удалением нейтрофилов [модели ОПЛ, вызванного липополисахаридом (ЛПС) и олеиновой кислотой] [35].

2. «Эпителиальная» гипотеза рассматривает гибель альвеолоцитов как следствие воздействия растворимых медиаторов системы FAS(CD95)/FAS-L(CD178). SFAS-L высвобождается в легких больных с ОПЛ. Считается, что при ОПЛ в результате апоптоза гибнут преимущественно альвеолярные клетки I типа [36]. Восприимчивость клеток здорового легкого к SFAS-L нарастает от проксимальных отделов к дистальным, а при ОПЛ повреждение эпителия отмечается преимущественно в дистальных отделах легких, что косвенно доказывает именно апоптотическую гибель клеток дистальных отделов легких при ОПЛ [30, 37, 38].

Таким образом, существуют убедительные доказательства того, что при ОПЛ, с одной стороны, происходит повышение интенсивности апоптоза альвеолярных клеток I типа посредством активации системы FAS(CD95)/FAS-L(CD178), а с другой — угнетение апоптоза нейтрофилов.

#### **Сепсис.**

Апоптоз при сепсисе возникает в различных органах: селезенке, ободочной кишке, тонкой кишке, лимфоидных органах, эндотелиальных и эпителиальных клетках легких. При сепсисе возникает, главным образом, каспаза-3-зависимый апоптоз лимфоцитов, что, вероятно, приводит к характерным для данного патологического состояния иммунным нарушениям [39].

При сепсис-индуцированном ОПЛ важную антиапоптотическую функцию выполняет оксид азота NO, вырабатываемый индуцибельной NO-синтазой (iNOS). NO ингибирует активность многих каспаз как *in vitro*, так и *in vivo* [40].

#### **Инфаркт миокарда (ИМ).**

Апоптоз кардиомиоцитов происходит под действием множества факторов: гипоксии, ацидоза, окислительного стресса, недостатка глюкозы, торможения обменных процессов,  $\beta_1$ -адреномиметиков, перерастяжения, ангиотензина II, TNF $\alpha$ , FAS-L и т. д. [41]

Главным принципом терапии острого ИМ является восстановление кровотока в коронарных артериях. Это спасает поврежденный участок миокарда от гибели, но, с другой стороны, вызывает

реперфузионное повреждение миокарда с активацией апоптоза кардиомиоцитов в переходной зоне инфаркта (по данным ряда исследований, в отдаленных от зоны некроза участках миокарда также индуцируется апоптоз). Это может привести к потере значительной массы клеток миокарда в пост-реперфузионном периоде [42].

При реперфузии апоптозу подвергается от 5 до 30% кардиомиоцитов. Ингибирование апоптоза кардиомиоцитов уменьшает размеры повреждения миокарда и уменьшает дисфункцию сердца в последующем [41].

Апоптоз в миокарде также может возникать и в момент ишемии. Гипоксия и торможение метаболических процессов в кардиомиоцитах являются индукторами апоптоза. Возникновение апоптоза в миокарде в момент ишемии или в момент реперфузии остается предметом дискуссии.

В неизменном миокарде экспрессия ингибитора апоптоза BCL-2 отсутствует, но вскоре после возникновения ИМ в клетках, окружающих зону некроза (но не в самой зоне) отмечается повышение экспрессии гена *bcl-2*. Напротив, экспрессия гена *bax* (активатор апоптоза) была повышена в зоне, окружающей очаг некроза. В пограничной зоне инфаркта также повышена экспрессия FAS.

Инсулиноподобный фактор роста I (Insuline-Like Growth Factor I, IGF-I) уменьшает выраженность апоптоза в кардиомиоцитах при инфаркте миокарда. В модельных экспериментах было показано, что миокард старых особей более подвержен апоптозу при реперфузии [43]. Перерастяжение миокарда после ИМ также способно стимулировать апоптоз.

При застойной сердечной недостаточности у людей происходит изменение уровня апоптотических медиаторов. Уровень BAX остается неизменным, тогда как антиапоптотический белок BCL-2 увеличивается более чем в 1,8 раза. Увеличенная экспрессия данного антиапоптотического белка показывает, что пораженный миокард пытается продлить жизнь клеток путем торможения апоптоза [35].

#### **Инсульт.**

При ишемическом инсульте апоптоз выявляется в зоне полутени. Наиболее важным механизмом развития апоптоза при ишемическом инсульте является описанная выше передача внутриклеточного сигнала посредством АИФ.

При ишемическом инсульте происходит накопление возбуждающих аминокислот в очаге ишемии, что приводит к накоплению ионов кальция в нейронах и запуску апоптоза. В наибольших количествах при ишемии в головном мозге накапливается возбуждающая аминокислота глутамат.

Важными индукторами апоптоза являются накапливающиеся в головном мозге активные метаболиты кислорода и азота. Активные метаболиты кис-

лорода начинают образовываться в поврежденных митохондриях ишемического очага в момент реперфузии, когда резко возрастает концентрация кислорода в тканях мозга. Также синтез активных метаболитов кислорода происходит в активированной микроглии и лейкоцитах, стимулируется повышенным внутриклеточным содержанием кальция. Активные метаболиты азота (NO, пероксинитрит) образуются из L-аргинина под действием фермента NO-синтазы. В повреждении клеток в очаге ишемии в наибольшей степени участвуют нейрональная NO-синтаза (nNOS) и индуцибельная NO-синтаза (iNOS). Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS), напротив, оказывает положительное воздействие на течение инсульта, вызывая вазодилатацию.

Компонентом молекулярной защиты в нейронах при ишемическом инсульте является активация генов, кодирующих белки теплового шока (HSP70) [44].

#### **Острая почечная недостаточность (ОПН).**

Почечная недостаточность, нередко развивающаяся при критических состояниях, в условиях реанимации обуславливает 50% смертность. Основные причины возникновения ОПН — ишемия, воздействие нефротоксинов, сепсис. Гипоперфузия вследствие гипотензии вызывает ишемию и ОПН. Гипотензия обычно сопровождается системную воспалительную реакцию и ПОН.

Хотя основным типом гибели клеток при ОПН является некроз, апоптоз так же играет определенную роль. При реперфузии возникает апоптоз клеток эпителия канальцев. Через 12 часов после реперфузии в эксперименте у крыс происходил апоптоз кортикальных почечных клеток. При сепсисе воздействие токсинов микроорганизмов вызывает апоптоз клубочковых клеток.

Многие лекарственные препараты могут вызывать ОПН, индуцируя апоптоз. В эксперименте гентамицин вызывал апоптоз клеток проксимальных и дистальных канальцев, передозировка ципрофлоксацина — только дистальных канальцев. Цисплатин вызывает либо некроз, либо апоптоз — в зависимости от дозы препарата.

Как и в других органах, в почках возникает повышение интенсивности апоптоза при реперфузии после эпизода ишемии. Апоптоз в данном случае индуцируется гипоксией и дефицитом АТФ в очаге ишемии. В течение 30 мин после реперфузии происходит образование церамида, который также инициирует апоптоз. Апоптоз стимулирует воспалительную реакцию в почках после реперфузии. Инсулиноподобный фактор роста-1 является ингибитором апоптоза клеток почки при реперфузии [35].

#### **Дисфункция печени при сепсисе.**

Печень более чувствительна, чем почки или селезенка, к воздействию липополисахарида (ЛПС) при сепсисе. ЛПС стимулирует апоптоз ге-

паточитов при сепсисе. Повышенная чувствительность печени к ЛПС объясняется, вероятно, большим числом рецепторов к  $\text{TNF}\alpha$ , возрастанием числа клеток воспаления, продуцирующих различные цитокины.

Механизм развития апоптоза гепатоцитов при воздействии ЛПС пока не известен. В эксперименте у мышей при введении  $\text{TNF}\alpha$  увеличивается интенсивность апоптоза гепатоцитов, который может быть заблокирован антителами к  $\text{TNF}\alpha$ . У морских свинок введение ЛПС сопровождается повышением уровня  $\text{TNF}\alpha$  в крови, iNOS в печени и селезенке. В течение первого часа после введения ЛПС интенсивность апоптоза нарастает, а некроза — снижается [35, 39].

#### **Миопатии при критических состояниях.**

При любом критическом состоянии возникает слабость скелетных мышц. Гистологически при критических состояниях (ожоги, сепсис, инъекция ЛПС, денервационные синдромы и др.) происходит снижение мышечной массы вследствие усиленного распада белков и неспособности белок-синтезирующих систем компенсировать данный распад. Протеолиз миофибрилл максимален в течение первого часа критического состояния. Дополнительным механизмом потери мышечной массы является апоптоз.

При ожогах и сепсисе апоптоз в скелетных мышцах нарастает в течение первых 4 часов и продолжается несколько дней. Апоптоз наблюдается как вблизи зоны ожога, так и в отдалении от нее. Существует также мнение, что ожоговая травма вызывает апоптотическую дегенерацию ДНК в участках скелетных мышц, удаленных от места ожога. Также после ожога апоптоз активируется в миокарде, слизистой кишки, что можно объяснить развитием системной цитокиновой реакции на ожоговую травму, запускающей апоптоз. Возникающая при сепсисе миопатия также во многом обусловлена апоптозом миоцитов. Денервация мышц, прием миорелаксантов, действие местных анестетиков индуцируют апоптоз в мышцах [35].

#### **Ингаляционные и неингаляционные анестетики и апоптоз.**

В анестезиологии, а также в процессе лечения больных, находящихся в критических состояниях, широко используются ингаляционные и неингаляционные анестетики, которые могут влиять на развитие апоптоза.

Показано, что севофлюран и изофлюран индуцируют апоптоз Т-лимфоцитов человека посредством повышения проницаемости мембраны МХ и активации каспазы-3, т. е. независимо от сигналов рецепторов смерти [45]. При ишемическом повреждении нейронов головного

мозга изофлюран способен тормозить развитие апоптоза сразу после развития ишемии, но не может предотвращать его на поздних стадиях восстановления после ишемического эпизода, т. е. постишемический апоптоз нейронов не ингибируется изофлюраном [46]. Тиопентал вызывает апоптоз лимфоцитов по CD95-независимому механизму [47].

#### **Терапевтическое модулирование апоптоза.**

В настоящее время проводятся многочисленные исследования по модулированию апоптоза в целях терапевтического воздействия при различных критических состояниях. Существуют следующие пути терапевтического воздействия на интенсивность апоптоза: применение агонистов или антагонистов рецепторов; индукция гиперэкспрессии Bcl-2; торможение синтеза важных компонентов апоптоза с помощью генетических методов. Следует отметить, что для влияния на интенсивность апоптоза необходимо создавать молекулы небольшого размера, которые способны проникнуть внутрь клетки через плазматическую мембрану.

Наиболее изучены на уровне доклинических исследований ингибиторы каспаз. Ингибиторы каспазы-3 предотвращают развитие апоптоза гепатоцитов, вызванного  $\text{TNF}\alpha$ . В модельных экспериментах ингибирование каспаз снижает интенсивность апоптоза при ишемии-реперфузии в почках, сердце, головном мозге и печени. Это приводит к уменьшению размеров очага некроза в миокарде и головном мозге в два раза; в три раза увеличивает выживаемость гепатоцитов при ишемии. Ингибитор каспаз Z-VAD.fmk предотвращает развитие ЛПС-индуцированного ОПЛ у мышей и значительно повышает их выживаемость. Ингибиторы каспаз также тормозят развитие апоптоза тубулярных клеток проксимальных почечных канальцев, вызванного цисплатином. Экзогенно вводимый сурфактант усиливает апоптоз нейтрофилов при ОПЛ [35, 39].

#### **Заключение.**

Изучение роли апоптоза при различных критических состояниях началось лишь в последние годы. Показано, что апоптоз является важным компонентом патогенеза острого повреждения легких, ишемического и реперфузионного повреждения при инфаркте миокарда и ишемическом инсульте, ПОН при сепсисе, острой почечной недостаточности, повреждении скелетных мышц при критических состояниях. Модулирование апоптоза открывает новые возможности для лечения описанных критических состояний. Необходимо проведение дальнейших исследований роли апоптоза в патогенезе критических состояний, а также способов лекарственного воздействия на него.

## Литература

1. Kerr J. F. R., Wyllie A. H., Currie A. R. Apoptosis — a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 1972; 26: 239–257.
2. Москалева Е. Ю., Северин С. Е. Возможные механизмы адаптации клетки к повреждениям, индуцирующим программированную гибель. Связь с патологией. *Патол. физиология и эксперим. терапия* 2006; 2: 5–12.
3. Белишуккина Н. Н., Белецкий И. П. Молекулярно-медицинские аспекты клеточной гибели. В кн.: М. А. Пальцев (ред.) Введение в молекулярную медицину. М.: ОАО Издательство Медицина; 2004.
4. Daniel N. N., Korsmeyer S. J. Cell death: Critical control points. *Cell* 2004; 116: 205–219.
5. Guccardi M. E., Gores G. J. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut* 2005; 54: 1024–1033.
6. Ashkenasi A., Dixi V. M. Death receptors: signalling and modulation. *Science* 1988; 281: 1305–1308.
7. Fulda S., Meyer E., Friesen C. et al. Cell type specific involvement of death receptors and mitochondrial pathways in drug-induced apoptosis. *Oncogene* 2001; 20: 1063–1075.
8. Scaffidi C., Fulda S., Srivivisan et al. Two CD95(APO-1/Fas) signalling pathways. *EMBO J.* 198; (17): 1675–1687.
9. Mehlen P. C. Thibert Dependence receptors: between life and death. *Cel. Mol. Life Sci.* 2004; 61: 1854–1866.
10. Nichols D. G. Mitochondrial function and dysfunction in the cell: its relevance to aging and aging-related processes. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2002; 34: 1372–1381.
11. Adams J. M., Cory S. Apoptosomes: Engines for caspase activation. *Cur. Opin. Cel. Biol.* 2002; 14: 715–720.
12. Susin S. A., Lorenzo H. K., Zamzani N. et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis inducing factor. *Nature* 1999; 397: 441–446.
13. Li L. Y., Luo X., Wang X. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature* 2001; 412: 95–99.
14. Verhagen A. M., Ekert P. G., Pakusch M. Identification of DIABLO, a mammalian protein that promotes apoptosis by binding to and antagonizing TAP proteins. *Cell* 2000; 102: 43–53.
15. Gray C. W., Ward R. V., Karran E. et al. Characterization of human HtrA2, a novel serine protease involved in the mammalian cellular stress response. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267: 5699–5710.
16. Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem. J.* 1999; 341: 233–249.
17. Marzo I., Brenner C., Zamzani N. Bax and adenine nucleotide translocator cooperate in the mitochondrial control of apoptosis. *Science* 1998; 281: 2027–2031.
18. Schendel S. L., Azimov R., Pawlowski K. Ion channel activity of the BH3-only Bcl-2 family member, BID. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 21932–21936.
19. Nakagawa T., Zhu H., Morishima N. et al. Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- $\beta$ . *Nature* 2000; 403: 98–103.
20. Morishima N., Nakanishi K., Takeouchi H. et al. An endoplasmic reticulum stress specific caspase cascade in apoptosis. Cytochrome c-independent activation of caspase-9 by caspase-12. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 34287–34294.
21. Guccardi M., Leist M., Gores G. J. Lysosomes in cell death. *Oncogene* 2004; 23: 2881–2890.
22. O'Reilly L. A., Cullen L., Visvader J. The proapoptotic BH3-only protein bim is expressed in hematopoietic, epithelial, neuronal and germ cells. *Am. J. Pathol.* 2000; 157: 449–461.
23. Puthalakath H., Villunger A., O'Reilly L. A. et al. Bim: A proapoptotic BH3-only protein regulated by interaction with the myosin V actin motor complex, activated by anoikis. *Science* 2001; 293: 1829–1832.
24. Oda E., Ohki R., Murasawa H. et al. Noxa, a BH3-only member of the Bcl-2 family and candidate mediator of p53-induced apoptosis. *Science* 2000; 288: 1053–1058.
25. Nakano K., Vousden K. H. PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53. *Mol. Cell* 2001; 7: 683–694.
26. Festjens N., Gurp M., Loo G. et al. Bcl-2 family members as sentinels of cellular integrity and role of mitochondrial intermembrane space proteins in apoptotic cell death. *Acta Haematol.* 2004; 111: 7–27.
27. Lotocki G., Kean R. W. Inhibitors of apoptosis proteins in injury and disease. *Life* 2002; 54: 231–240.
28. Marimoto R. I. Cells in stress: transcriptional activation of heat shock genes. *Science* 1993; 259: 1409–14100.
29. Jaattela M. Heat shock proteins as cellular lifeguards. *Ann. Med.* 1999; 31: 261–271.
30. Albertine K. H., Soulier M. F., Wang Z. et al. Fas and fas ligand are up-regulated in pulmonary edema fluid and lung tissue of patients with acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Pathol.* 2002; 161 (5): 1783–1796.
31. Ware L. B., Matthay M. A. The Acute Respiratory Distress Syndrome. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342 (18): 1334–1349.
32. Matute-Bello G., Liles W. C., Radella F. et al. Neutrophil apoptosis in the acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1997; 156 (6): 1969–1977.
33. Geerts L., Jorens Ph. G., Willems J. et al. Natural inhibitors of neutrophil function in acute respiratory distress syndrome. *Grit. Care Med.* 2001; 29 (10): 1920–1924.
34. Greene K. E., Wright J. R., Steinberg K. P. et al. Serial changes in surfactant-associated proteins in lung and serum before and after onset of ARDS. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1999; 160 (6): 1843–1850.
35. Lydon A., Jeevendra M. J. A. Apoptosis in Critical Illness. *Int. Anesthesiol. Clin.* 2003; 41 (1): 65–77.
36. Куров М. Ю., Кузьков В. В., Недашковский Э. В. Острое повреждение легких при сепсисе — патогенез и интенсивная терапия. Архангельск: СМУ; 2004.
37. Nakamura M., Matute-Bello G., Liles W. C. et al. Differential response of human lung epithelial cells to Fas-induced apoptosis. *Am. J. Pathol.* 2004; 164 (6): 1949–1958.
38. Matute-Bello G., Conrad Liles W., Steinberg K. P. et al. Soluble fas ligand induces epithelial cell apoptosis in humans with acute lung injury (ARDS). *J. Immunol.* 1999; 163: 2217–2225.
39. Hotchkiss R. S. et al. Apoptosis cell death in patients with sepsis, shock, and multiple organ dysfunction. *Crit. Care Med.* 1999; 27 (7): 1230–1251.
40. Rudkowski J. C. Roles of iNOS and NOS in sepsis-induced pulmonary apoptosis. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2004; 286: L793–L800.
41. Crow M. T. The mitochondrial death pathway and cardiac myocyte apoptosis. *Circ. Res.* 2004; 95: 957–970.
42. Saraste A. Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation* 1997; 95: 320–323.
43. Krijnen P. A. Apoptosis in Myocardial Ischaemia and Infarction. *J. Clin. Path.* 2002; 55: 801–811.
44. Yenari M. A. Pathophysiology of acute ischemic stroke. *Cleveland Clinic J. Med.* 2004; 71: S25–S27.
45. Torsten L. et al. Volatile anesthetics induce caspase-dependent, mitochondria-mediated apoptosis in human t-lymphocytes *in vitro*. *Anesthesiology* 2005; 102 (6): 1147–1157.
46. Kawaguchi M. et al. Effect of isoflurane on neuronal apoptosis in rats subjected to focal cerebral ischemia. *anesth. Analg.* 2004; 98: 798–805.
47. Marius K. et al. Thiopental-induced apoptosis in lymphocytes is independent of CD95 activation. *Anesthesiology* 2005; 103 (3): 576–584.

Поступила 20.06.06