

РОЛЬ АПОПТОЗА АЦИНАРНЫХ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

В. Г. Давыдов

Кафедра общей и неотложной хирургии (зав. - доц. Р. Ш. Шаймарданов) Казанской государственной медицинской академии последипломного образования, кафедра патофизиологии (зав. - проф. М. М. Миннебаев) Казанского государственного медицинского университета

С 1972 г., когда J.F. Kerr, A.H. Wyllie, A.R. Currie, Br.J. Sanceg описали явление апоптоза как особого вида гибели клеток, отличающегося от некроза, интерес исследователей к этому варианту клеточной смерти неуклонно возрастает. С учетом регулируемости процесса апоптоза и его значения при тех или иных заболеваниях можно существенным образом влиять на их течение. Механизмы апоптоза вовлечены как в нормальную жизнедеятельность организма (эмбриогенез, морфогенез, прекращение иммунного ответа, стресс-реакция и др.), так и в процессы патологии (подавление апоптоза - неоплазии, аутоиммунные заболевания, вирусные инфекции; стимуляция апоптоза - СПИД, нейродегенеративные и гематологические заболевания, ишемия, интоксикация, гепатит, атеросклероз и др.) [3, 6, 7, 10].

В последнее десятилетие в литературе активно обсуждается роль апоптоза в патогенезе острого воспаления поджелудочной железы. Для понимания роли апоптоза при остром панкреатите необходимо в первую очередь обратиться к патогенезу заболевания, а именно к тем процессам, которые происходят на самых ранних этапах его развития. С тех пор, как стали известны ферментативные свойства панкреатического сока, ведущая роль в патогенезе острого панкреатита отводится аутолизу поджелудочной железы.

Существует множество теорий, объясняющих механизм заболевания. Основными из них являются теория "общего канала" и протоковой гипертензии, сосудистая, нейрогенная, травматическая, инфекционно-аллергическая, вирусная, аутоиммунная, метаболическая. Все они раскрывают патогенез заболевания с точки зрения этиологического фактора. Большинство авторов признают, что независимо от причины в поджелудочной железе реализуется ряд механизмов, приводящих в конечном итоге к преждевременной активации трипсиногена и превращению его в трипсин, который, в свою очередь, активирует прочие проферменты. Установлено, что активация пищеварительных ферментов происходит внутри ацинарных клеток уже на самых ранних этапах развития заболевания, по экспериментальным данным, в пределах 15 минут с момента индукции панкреатита [17, 30]. Таким образом, острый панкреатит представляет собой "полиэтиологическое, но монопатогенетическое заболевание" [12, 15, 17, 30, 32, 33].

Большая часть исследований в этой области выполнена на модели, в которой острый панкреатит вызывался путем введения подопытным животным церуленна - пептида, эффекты которого сходны с действием гормона холецистокинина, индуцирующего повышение секреторной активности ацинарных клеток. Выбор данной модели острого панкреатита обусловлен простотой ее выполнения, сочетающейся с получением необ-

ходимого эффекта. В то же время существует ряд других методов индукции острого панкреатита: перевязка протока поджелудочной железы, введение в проток различных раздражителей, содержание подопытных животных на специальной диете и др. При использовании всех этих методов исследователи отмечают аналогичные механизмы преждевременной внутриацинарной активации пищеварительных ферментов.

Ацинарные клетки являются источником синтеза белков в шероховатом эндоплазматическом ретикулуме и транспортируются в комплекс Гольджи, где подвергаются посттрансляционной обработке. Более 90% синтезированных в ацинарных клетках белков представляют собой пищеварительные проферменты, предназначенные для выведения из клетки. Они упаковываются в специальные вакуоли при прохождении через комплекс Гольджи и переносятся к люминальной плазматической мембране. Конденсированные вакуоли преобразуются в зимогенные гранулы, которые на плазматической мембране сливаются с ее поверхностью, что приводит к высвобождению содержимого гранул в протоковое пространство. Ацинарные клетки также синтезируют ферменты, которые предназначены для переваривания внутриклеточных субстратов и локализуются в лизосомах ацинарных клеток. Проходя через комплекс Гольджи, лизосомальные протеиназы фосфорилируются, отделяются от секреторных протеинов, затем соединяются с рецепторами комплекса Гольджи и транспортируются отдельно от секреторных протеинов в лизосомальный компартмент клетки. Возможность воздействия лизосомальных протеиназ на проэнзимы поджелудочной железы обусловлена нарушением путей разобщения этих веществ при прохождении их через комплекс Гольджи на ранних этапах развития острого панкреатита. В результате этого лизосомальные протеиназы и пищеварительные ферменты оказываются в одних и тех же внутриклеточных вакуолях.

Таким образом, ключевую роль в активации трипсиногена и превращении его в трипсин могут играть протеиназы, содержащиеся в лизосомах ацинарных клеток, а именно - катепсин В, активность которого при остром панкреатите повышается [15]. Доминирующая роль катепсина В в преждевременной активации трипсиногена при остром панкреатите подтверждена исследованиями с использованием его ингибиторов, которые позволили предотвратить развитие панкреатита или уменьшить тяжесть его течения [33]. Подтверждением вышеизложенного является исследование, проведенное на мышах с поврежденным геном, кодирующим катепсин В [15]. В процессе развития острого панкреатита было показано снижение почти на 50% содержания активного трипсина в ацинарных клетках и количества

ацинарных клеток, подвергшихся некрозу. В то же время содержание трипсиногена в опытной и контрольной группах животных было одинаковым. Неполный блок превращения трипсиногена может быть обусловлен прочими механизмами, способными вызывать его активацию. К этим факторам следует отнести собственную каталитическую активность трипсина, а также вовлечение в процесс других лизосомальных протеиназ [12]. Следует отметить, что степень вовлечения в апоптоз ацинарных клеток, а также системный воспалительный ответ, свойственный острому панкреатиту, в опытной и контрольной группах животных оказались одинаковыми. На основании этого авторы делают вывод о том, что при субпороговом повреждении поджелудочной железы системные реакции развиваются независимо от степени начальной активации трипсиногена и/или степени повреждения ацинарных клеток.

Таким образом, следует предположить, что развитие апоптоза ацинарных клеток независимо от степени активации трипсиногена обусловлено агрессивностью причинного фактора. Эту точку зрения подтверждает разная степень вовлечения в апоптоз ацинарных клеток при панкреатитах различной тяжести течения.

Единый механизм преждевременной активации трипсиногена внутри ацинарных клеток на ранних этапах развития острого панкреатита в экспериментальных моделях, индуцированных различными этнологическими факторами, позволяет сделать следующее предположение. Некроз ацинарных клеток при остром панкреатите, сопровождающийся нарушением целостности клеточных мембран, запускает процесс самопереваривания поджелудочной железы. При апоптозе клеточные мембраны ацинарных клеток остаются неповрежденными, поэтому воздействия ферментов на паренхиму железы не происходит. Эта гипотеза подтверждается многочисленными экспериментальными исследованиями, свидетельствующими о том, что при легких, отечных формах панкреатита более выражен апоптоз ацинарных клеток, в то время как при тяжелых, деструктивных - некроз [8, 14, 16, 18, 19, 21, 30].

Подробное изучение взаимосвязи между тяжестью течения, некрозом и апоптозом ацинарных клеток поджелудочной железы при экспериментальном остром панкреатите было проведено A. Kaiser et al. [21]. Авторы изучили взаимосвязь между апоптозом, некрозом и тяжестью острого панкреатита с использованием внутривенного введения церулеина крысам, что приводит к легкому отечному панкреатиту, подкожных инъекций мышам церулеина, индуцирующих панкреатит средней тяжести и содержания мышей на специальной холин- и метиониндефицитной диете с добавлением 0,5% DL-этионина (CDE-диета), вызывающего у них панкреатит тяжелой некротической формы. Тяжесть панкреатита оценивали по уровню амилазы в крови.

На основании полученных результатов был сделан вывод о том, что апоптоз является благоприятным ответом ацинарных клеток на повреждение. Представленные данные коррелируют с данными других исследователей. В частности было показано, что подавление апоптоза ацинарных клеток приводит к усугублению заболевания [20]. В то же время стимуляция апоптоза позволяет уменьшить тяжесть панкреатита, особенно если индукция апоптоза предшествует повреждению поджелудочной железы [8, 22].

При остром панкреатите апоптоз ацинарных клеток сопровождается экспрессией про- и антиапоптотических генов - $p53$, bax , $bclXL$ [13, 24, 34]. В процесс вовлечены различные медиаторы, опосредующие регуляцию молекулярных механизмов апоптоза. К ним относятся интерлейкин-10 (IL-10) и другие интерлейкины, каспазы 3 и 8, протеаза ICE (IL-1 β -конвертирующий фермент), комплекс Fas/FasL, ионы кальция, фактор активации тромбоцитов, транскрипционный ядерный фактор (NF- κ B), фактор некроза опухолей α и др. [14, 18, 23, 27, 29]. К сожалению, качественные и количественные взаимодействия между этими факторами точно не установлены, что обусловлено сложностью и многокомпонентностью процесса, а также тем, что в условиях патологии одновременно запускается несколько программ апоптоза.

В рамках данной статьи хотелось бы подробнее остановиться на предполагаемой роли фосфолипазы A_2 в модуляции процессов апоптоза ацинарных клеток. В течение нескольких десятков лет отечественные и зарубежные исследователи отводят фосфолипазе A_2 одно из ведущих мест в повреждении ацинарных клеток при остром панкреатите и в развитии многих системных осложнений заболевания [1, 2, 4, 5, 25]. На начальных этапах изучения роли фосфолипазы A_2 ее повреждающее действие связывали непосредственно с активностью самого фермента, а затем с лизолецитином - продуктом гидролиза фосфолипидов клеточных мембран. Накопление экспериментальных и клинических данных позволяет переоценить сложившиеся представления. В настоящее время известно 10 изоформ фосфолипазы A_2 . Некоторые из них локализуются в цитозоле клеток, другие секретируются клетками в окружающую среду [9, 11]. Из секреторных фосфолипаз при остром панкреатите наиболее подробно изучены два типа: I - панкреатическая фосфолипаза A_2 , выделяемая ацинарными клетками, и II - непанкреатическая фосфолипаза A_2 . Источниками фермента типа II являются иммунокомпетентные клетки, в частности нейтрофилы, а также гепатоциты [31].

Показано, что повышение сыровоточной активности фосфолипазы A_2 при остром панкреатите коррелирует с тяжестью заболевания, причем повышенная активность обусловлена ферментом типа II, которому отводится роль острофазового белка, участвующего в системном воспалительном ответе и обуславливающего системные осложнения острого панкреатита [4, 11, 26, 31]. Активность панкреатической фосфолипазы не связана со степенью деструктивных поражений поджелудочной железы, а также не является для нее поражающим фактором [27, 31]. Описанные взаимоотношения подтверждены работой W. Uhl et al. [31], в которой показано, что введение подопытным животным церулеина индуцирует легкую форму острого панкреатита при отсутствии деструктивных изменений поджелудочной железы и приводит к повышению активности фосфолипазы A_2 типа I в сыворотке крови. Авторы связывают это с гиперсекрецией фермента в ответ на введение церулеина. В то же время повышения активности фосфолипазы A_2 типа II в этой модели не обнаружилось. Введение в проток поджелудочной железы таурохолат натрия обуславливало тяжелое течение острого панкреатита с массивной деструкцией железы и сопровождалось

значительным увеличением в сыворотке активности фосфолипазы A_2 типа II. Повышение активности фермента типа I было незначительным, что могло быть вызвано попаданием его в кровь из разрушенных ацинарных клеток.

Известно, что фосфолипаза A_2 оказывает свое действие на ацинарные клетки поджелудочной железы опосредованно через свой продукт лизолецитин (лизофосфатидилхолин), который образуется в результате гидролиза мембранных фосфолипидов. А. Masamune et al. [24] обнаружили дозозависимое действие лизофосфатидилхолина на ацинарные клетки поджелудочной железы *in vitro*. В дозе от 10 до 25 мкМ лизофосфатидилхолин индуцировал их апоптоз, что сопровождалось экспрессией проапоптотического гена p53. В дозе выше 50 мкМ проявлялось цитотоксическое действие лизофосфатидилхолина, приводящее к некрозу ацинарных клеток. Отсюда следует предположить, что при тяжелых формах заболевания воспалительная реакция, возникающая в ответ на незначительные деструктивные изменения, сопровождается хемотаксисом нейтрофилов в ткань пораженной поджелудочной железы. Выделяемая нейтрофилами фосфолипаза A_2 типа II приводит к повышению местной концентрации лизофосфатидилхолина. В то же время лизофосфатидилхолин в высоких концентрациях вызывает некроз и деструкцию ацинарных клеток. Усиливающаяся в связи с этим воспалительная инфильтрация замыкает тем самым порочный круг. Возможно, данный механизм объясняет преимущественное развитие апоптоза ацинарных клеток при легких формах панкреатита, в условиях низкой концентрации лизофосфатидилхолина. В данном случае процесс приобретает самоограничивающийся характер. Некоторые авторы делают предположение, что апоптоз мог бы быть единственной формой гибели ацинарных клеток при панкреатите, если бы в процесс не «вмешивались» нейтрофилы [19, 28].

Таким образом, фармакологическое воздействие на ацинарные клетки может стать одним из перспективных направлений в терапии острого панкреатита. Разработка препаратов, способных вызывать апоптоз ацинарных клеток, позволит проводить более эффективную терапию острого панкреатита, а также предупреждать или ослаблять его течение в ситуациях, связанных с риском его возникновения (например, оперативные вмешательства на органах панкреатобилиарной зоны, эндоскопические вмешательства на большом дуоденальном сосочке, ретроградная панкреатохолангиография и др.). Актуальность такого подхода подчеркивается тем, что апоптоз ацинарных клеток поджелудочной железы при остром панкреатите является не только объектом экспериментальных исследований, но и зарегистрирован у человека [16].

ЛИТЕРАТУРА

1. Ваетко Р. В., Толстой А. Д. и др. Острый панкреатит и травмы поджелудочной железы: руководство для врачей. - СПб, 2000.
2. Костюченко А. А., Филин В. И. Неотложная панкреатология: Справочник для врачей. - СПб, 2000.
3. Лушников Е. Ф., Абросимов А. Ю. Гибель клетки (апоптоз). - М., 2001.
4. Назаренко Г. И., Кишкун А. А. Лабораторные методы диагностики неотложных состояний. - М., 2002.
5. Савельев В. С., Буянов В. М., Огнев Ю. В. Острый панкреатит. - М., 1983.
6. Цыпенкова В. Г., Бескровнова Н. Н. // Арх. патол. - 1996. - № 5. - С. 71 - 74.
7. Ярилин А. А. // Пат. Физиол. - 1998. - № 2. - С. 38-48.
8. Bhatia M., Walling A. M. et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1998. - Vol. 246(2). - P. 476 - 483.
9. Cummings B. S., McHowat J., Schnellmann R. C. // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2000. - Vol. 294(3). - P. 793-799.
10. Franko J., Pomfy M., Prossova T. // Acta Medica (Hradec Kralove). - 2000. - Vol. 43(2). - P. 63 - 68.
11. Friess H., Shrikhande S. et al. // Ann. Surg. - 2001. - Vol. 233(2). - P. 204 - 212.
12. Frossard J. L. // JOP. J. Pancreas (Online). - 2001. - Vol. 2(2). - P. 69 - 77.
13. Gomez C., Lee H. M. et al. // Exp. Biol. Med. (Maywood). - 2001. - Vol. 226(7). - P. 692 - 700.
14. Gukovskaya A. S., Gukovsky I. et al. // J. Biol. Chem. - 2002. - Vol. 277(25). - P. 22595 - 22604.
15. Halangk W., Lerch M. M. et al. // J. Clin. Invest. - 2000. - Vol. 106(6). - P. 773 - 781.
16. He Z. J., Podkletnova I. et al. // Ann. Chir. Gynaecol. - 2000. - Vol. 89(1). - P. 65-67.
17. Hofbauer B., Saluja A. K. et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. - 1998. - Vol. 275(2). - P. G352-362.
18. Jin C., Ni., Zhang Q. // Zhonghua Wai Ke Za Zhi. - 2001. - Vol. 39(8). - P. 626 - 628 [abstract].
19. Jones B. A., Gores G. J. // AJP Gastroint. Liver Physiol. - 1997. - Vol. 273(6). - P. G1174 - G1188.
20. Kaiser A. M., Saluja A. K. et al. // Am. J. Physiol. - 1996. - Vol. 271(3 Pt 1). - P. 982 - 993.
21. Kaiser A. M., Saluja A. K. et al. // Am. J. Physiol. - 1996. - Vol. 269 (5 Pt 1). - P. C1295 - C1304.
22. Kimura K., Shimosegawa T. et al. // Pancreas. - 1998. - Vol. 17(2). - P. 120 - 126.
23. Malka D., Vasseur S. et al. // Gastroenterology. - 2000. - Vol. 119(3). - P. 816 - 828.
24. Masamune A., Sakai Y. et al. // Pancreas. - 2001. - Vol. 22(1). - P. 75 - 83.
25. Mayer J. M., Rau B. et al. // Digestion. - 2000. - Vol. 62(2-3). - P. 164 - 170.
26. Miura M., Endo S. et al. // Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol. - 2001. - Vol. 109(3-4). - P. 159-164.
27. Mossner J., Wessig C. et al. // Int. J. Pancreatol. - 2000. - Vol. 27(1). - P. 29 - 38.
28. Rau B., Paszkowski A. et al. // Pancreas. - 2001. - Vol. 23(1). - P. 80 - 88.
29. Rau B., Paszkowski A. et al. // Lab. Invest. - 2001. - Vol. 81(7). - P. 1001 - 1013.
30. Steer M. L. // Bailliere's Clinical Gastroenterology. - 1999. - Vol. 13(2). - P. 213 - 225.
31. Uhl W., Schrag H. J. et al. // Gut. - 1997. - Vol. 40. - P. 386 - 392.
32. Urutela A., Manso M. A. et al. // Clin. Sci. (Lond). - 2000. - Vol. 98(2). - P. 143 - 150.
33. Van Acker G. J., Saluja A. K. et al. // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. - 2002. - Vol. 283(3). - P. G794 - 800.
34. Yuan Y., Gong Z. et al. // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2001. - Vol. 16(6). - P. 683 - 688.

Поступила 14.11.03.