

РОЛЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В РАЗВИТИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ЗАПРОГРАММИРОВАННОЙ ГИБЕЛИ НЕЙРОНОВ

Ю.Д. Губарев
А.М. Колесников

*Белгородский
государственный
университет*

e-mail: Gubarev@bsu.edu.ru

Нейроиммунология – наука, исследующая механизмы и принципы интеграции иммунной и нервной систем при различных поражениях головного мозга. Проведен анализ семи исследований последних лет, посвященных изучению различных показателей иммунитета и их значения в развитии апоптоза нейронов головного мозга.

Ключевые слова: иммунная система, апоптоз, некроз, гибель клеток.

"Апоптоз" (буквально "листопад" – греч.) – широко распространенное биологическое явление ликвидации функционально "ненужных" клеток и тканей. Явление апоптоза лежит в основе дифференцировки органов в онтогенезе, а также замены клеток и тканей, подвергшихся возрастным или патологическим воздействиям.

Термин "апоптоз" впервые был предложен в 1972 г. для обозначения генетически обусловленного процесса разрушения клетки и характеризуемого ее сжатием, агрегацией хроматина и деструкцией клеточного ядра. Биологическая "цель" этого явления состоит в удалении нежелательных клеток в процессе индивидуального развития, при защитных реакциях, старении. Физиологическое назначение апоптоза состоит в селекции разновидностей и качества клеток внутри популяции, в том числе удалении клеток с генетическими дефектами, а также поддержании численности клеток тканевой популяции на функционально необходимом уровне.

Эмбриональное и постэмбриональное развитие мозга сопровождается изменениями числа, структуры и функциональных "качеств" нервных клеток. Соотношение процессов возникновения новых структур и ликвидации "ненужных" клеток регулируется апоптотическими процессами. Закономерный характер апоптотических реакций прослеживается как на субклеточном уровне (митоптоз – ликвидация митохондрий), так и в целом организме – в процессе индивидуального развития, когда наблюдаются регрессия рудиментарных органов, перестройка клеточного пула при росте и дифференцировке тканей.

Апоптоз как явление впервые был описан морфологами. Основываясь на микроскопической картине гибнущей клетки, они установили, что клетки погибают, по крайней мере, двумя путями: некроз и апоптоз. При некрозе клетки набухают, их митохондрии и другие органеллы расширяются (вследствие нарушения работы ионных каналов) и разрываются внутриклеточные и плазматическая мембраны клетки. В результате этого активируются лизосомальные ферменты, а внутриклеточное содержимое, попадая во внеклеточную среду, вызывает воспалительные процессы. Классические причины, приводящие к некрозу клетки – гипертермия, ингибирование окислительного фосфорилирования, гликолиза или цикла Кребса, гипоксия, действие комплекса или различных токсинов. Некрозом традиционно называют отмирание отдельных клеток, групп клеток, тканей и органов в живом организме [5], однако однозначное понимание данного термина еще не сложилось. Отсутствие общепринятых понятий и четкой терминологии в области изучения некроза клеток отчетливо проявилось в современной литературе [5, 12], содержащей взаимоисключающие точки зрения на это явление. Ряд авторов используют термин «некроз» для обозначения распада погибших клеток в живом организме [12]. Данная трактовка убедительно представлена в работе G. Majno и I. Joris [1995 г.], которые утверждают, что некрозу подвергаются клетки, погибшие как по типу апоптоза (apoptosis), так и вследствие повреждений (accidental cell death). Вместе с тем, другие авторы расширяют понятие «некроз», утверждая, что некротический процесс включает следующие стадии: 1) паранекроз (преднекроз) – обратимые изменения клетки; 2) некробиоз (некро-фанероз) – необратимые изменения с преобладанием катаболических реакций; 3) смерть клетки,



время наступления которой установить трудно и 4) аутолиз (постнекротические изменения) — разложение мертвого субстрата [7, 9]. Именно такая трактовка позволила называть некрозом тот или иной тип клеточной смерти, который, очевидно, определяется по особенностям изменений клетки накануне и после ее смерти. Так, термином «shrinkage necrosis» в 1971 г. был обозначен особый тип клеточной смерти, называемый теперь апоптозом. Широкое распространение получило использование термина «некроз» для обозначения разных типов смерти клеток от повреждения, что породило представление о существовании двух путей гибели клеток: некрозе и апоптозе.

Отличительной морфологической чертой апоптоза является коллапс ядра [8]. Хроматин, который в норме представлен открытыми и конденсированными областями (гетеро- и эухроматин), становится суперконденсированным в форме полумесяца по периферии ядра. В этот момент начинается фрагментация ДНК. На ранних стадиях апоптоза, в отличие от некроза, клетка наоборот, сморщивается, теряя до 1/3 своего объема за несколько минут, ее структуры разрушаются цистеиновыми-аспарагиновыми протеиназами, так называемыми каспазами [2, 6, 8]. Семейство этих ферментов (в него входит около десяти различных протеиназ) составляет каскад взаимоконтролируемых белков, перевод которых в активное состояние требует одновременного присутствия ряда клеточных факторов. Важной особенностью этого процесса является то, что не происходит повреждения мембран клетки. Усыхание хорошо выражено как в культуре клеток, так и в тканевых срезах, где апоптотическая клетка отделяется от соседних клеток. Далее апоптотическая клетка превращается в совокупность окруженных мембраной апоптотических телец различных по своему составу, которые фагоцитируются макрофагами или соседними клетками. Клетка на данном этапе еще живая (включение летального красителя трипанового синего не происходит). Видимо в этом и есть задача апоптоза – утилизация еще живых апоптотических телец, пока содержимое клетки не попадает во внеклеточную среду, не вызывая воспалительных явлений. Т.е. уничтожение клеток путем апоптоза обеспечивает минимальное повреждение тканей по сравнению с другими механизмами смерти.

Биохимические и морфоцитологические признаки апоптоза выявляются в большом спектре экспериментальных нейродегенеративных расстройств: транзиторной церебральной ишемии, вызванной окклюзией церебральной артерии; интрацеребральной геморрагии; на моделях эпилептогенных судорог, локальном термическом повреждении мозга. Апоптоз включается в патологии любых проявлений ишемических и травматических повреждений нервной ткани, включая нарушения спинного мозга, деменциальные изменения, связанные с развитием болезней Альцгеймера, Паркинсона, сенильной деменцией, врожденными патологиями мозга и др. Таким образом, можно говорить о нейроапоптозе как новом патобиохимическом механизме нейродегенеративных расстройств широкого спектра.

Феномен апоптоза является результатом действия различных факторов, приводящих к гибели клетки. Это могут быть неспецифические факторы, такие как температура, токсические агенты, оксиданты, свободные радикалы, g- и УФ-излучение, бактериальные токсины и др. Во всех этих случаях происходит индукция апоптоза, но при увеличении дозы соответствующего агента развивается некроз клетки. Поскольку апоптоз физиологическое явление, то в организме должны быть факторы, приводящие к апоптозу клетки. К настоящему времени известно, что апоптоз могут вызывать как внутриклеточные сигналы, так и внешние, опосредующие свое действие через рецепторные системы, которые сами по себе не являются токсическими или деструктивными.

Согласно схеме Оргорозо (1999 г.) апоптоз является завершающей стадией «ишемического каскада». Однако в настоящее время экспериментально получены данные свидетельствующие, что в ряде случаев в развитии запрограммированной гибели мозга играют роль не только «звенья» «ишемического каскада», но и спонтанная активация иммунной системы.

Наиболее хорошо изучена последовательность событий, приводящих к клетку



апоптозу в результате взаимодействия белков из семейства ФНО со специфическими рецепторами. Ярким представителем этой группы белков является система Fas/Fas-L. Следует отметить, что для этой системы не известны другие функции, кроме как индукции апоптоза клетки. Fas/APO-1/CD-95 -рецептор, по структуре, относящийся к рецепторам семейства ФНО. Взаимодействие Fas с Fas-L (лиганд) или с моноклональными антителами приводит к апоптозу клетки [1, 10]. Fas конститутивно экспрессируется на поверхности клеток многих типов: на тимоцитах, лимфобластоидных клеточных линиях, активированных Т- и В-лимфоцитах, а также на фибробластах, гепатоцитах, кератиноцитах, миелоидных клетках. Человеческий Fas состоит из 325 аминокислотных остатков и относится к мембранным белкам I типа. Т.е. в его структуре можно выделить внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический домены. Гомология аминокислотной последовательности среди рецепторов семейства ФНО высока. Примерно 80 аминокислотных остатков образуют домен смерти (DD), который вовлекается в белок-белковое взаимодействие с цитоплазматическими белками, генерируя сигнал смерти. Ген Fas у человека локализован в длинном плече хромосомы 10 и состоит из 9 экзонов.

Fas-L является цитокином и относится к семейству цитокинов ФНО. Fas-L экспрессируется на активированных Т-лимфоцитах и натуральных киллерах, а также на клетках Сертоли и паренхимных клетках передней камеры глаза, что позволяет этим клеткам убивать любую Fas-экспрессирующую клетку, в том числе и активированный Т-лимфоцит. Этот механизм определяет появление защищенных от иммунной системы мест. Fas-L существует в двух формах – нерастворимой или мембраносвязанной и растворимой, отщепляемой от клетки с помощью металлопротеиназы. Растворимая форма человеческого Fas-L сохраняет свою активность. Подобно другим лигандам рецепторов семейства ФНО, Fas-L, гомотример связывается с тремя молекулами Fas.

При связывании лиганда с рецептором происходит олигомеризация цитоплазматических белков: (1) DD (домен смерти), относящийся к рецептору, (2) адапторного белка – FADD (Fas-ассоциированный домен смерти), содержащий DED – эффекторный домен смерти и (3) прокаспазы-8. В результате этого процесса происходит активация апоптоз-специфической протеазы – каспазы-8 и развиваются характерные для апоптоза процессы [1].

Биохимические изменения, которые происходят на ранней стадии апоптоза могут индуцировать дисфункцию митохондрий или прямо или косвенно. Семейство B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) белков содержит как про-, так и анти-апоптотические члены. Наиболее изученные анти-апоптотические члены в нейронах – это Bcl-2 и Bcl-xL; про-апоптотические члены – это Bcl-2-associated X-protein (Bax) и Bcl-associated death promoter (Bad). Избыточная экспрессия Bcl-2 в культуре клеток и у трансгенных мышей усиливает резистентность нейронов к гибели, индуцируемой с помощью эксайтотоксичности, метаболического и оксидативного стресса. Напротив, нейроны без Bax защищены от апоптоза. Механизм, с помощью которого Bcl-2 белки контролируют гибель клеток, неясен до конца, но он связан с взаимодействиями членов этого семейства с митохондриями [2, 10].

Во время эволюции на нервную систему оказывалось серьезное давление, чтобы выработать механизм защиты против нейрональной гибели. Имеется несколько важных путей передачи анти-апоптотических сигналов. Идентифицированы нейротрофные факторы, которые могут защищать нейроны от апоптоза путем активации рецепторов, связанных через киназные каскады с продукцией белков, способствующих выживанию клеток [13]. Например, brain-derived neurotrophic factor (BDNF), nerve growth factor (NGF) и basic fibroblast growth factor (bFGF) могут предупреждать гибель нейронов в культуре частично за счет стимуляции продукции антиоксидантных энзимов, членов семейства Bcl-2 и белков, участвующих в регуляции гомеостаза кальция [13]. Цитокины, такие как tumour necrosis factor- α (TNF- α), ciliary neurotrophic factor (CNTF) и leukaemia inhibitory factor (LIF) могут предупреждать гибель нейронов в экспериментальных моделях.

Некоторые нейротрофные факторы и цитокины используют путь выживания,



связанный с транскрипционным фактором NF-κB. Активация NF-κB может защищать культивируемые нейроны от гибели, индуцированной различными стимулами. Изучение мышей, у которых отсутствует р50 субъединица NF-κB показало, что NF-κB также является анти-апоптотическим фактором в головном мозге и *in vivo*. Генными мишенями, которые обеспечивают это действие NF-κB, могут быть Bcl-2 и inhibitor of apoptosis proteins (IAPs) [13]. Однако, активация NF-κB в микроглии может способствовать нейрональному апоптозу путем индукции продукции свободных радикалов, следовательно, NF-κB может или предупреждать или способствовать гибели нейронов в зависимости от специфических условий.

Помимо внеклеточных путей нейропротекции существует несколько внутриклеточных сигнальных путей, защищающих нейроны от апоптоза [13]. Например, стресс может индуцировать экспрессию нейротрофных факторов и хит-шоковые белки. Нейротрофные факторы в свою очередь действуют аутокринным или паракринным способом, чтобы активировать рецепторами опосредованные киназные сигнальные пути на клеточной поверхности, которые ультимативно индуцируют экспрессию генов, кодирующих способствующие выживанию белки, такие как антиоксидантные ферменты. Хит-шоковые белки взаимодействуют непосредственно с каспазами, ингибируя их активность.

Кальций наиболее разносторонний и важный внутриклеточный мессенджер в нейронах. Хотя кальций часто способствует гибели нейронов, он может также активировать пути, которые способствуют выживанию. Например, кальций может способствовать выживанию посредством пути, связанным с активацией protein kinase B (PKB/Akt), он является важным регулятором клеточной реакции на стресс, активируя транскрипцию через cyclic-AMP response element-binding protein (CREB), который может способствовать выживанию нейронов. Кальций может также активировать быстрый путь нейропротекторных сигналов, в котором активированный кальцием белок гелсолин индуцирует деполимеризацию актина, вызывая супрессию притока кальция через мембранные NMDA (N-methyl-D-aspartate) рецепторы и вольтаж-зависимые кальцевые каналы. Это может осуществляться через белки, которые взаимодействуют с NMDA рецепторами и белками кальцевых каналов. Наконец, сигналы, такие как кальций и секретируемые amyloid precursor protein-α (sAPP-α), которые увеличивают продукцию цАМФ, могут индуцировать активацию калиевых каналов и транскрипционный фактор NF-κB, и тем самым увеличить резистентность нейронов к апоптозу.

Таким образом, апоптоз является общебиологическим механизмом, ответственным за поддержание постоянства численности клеточных популяций, а также формообразование и выбраковку дефектных клеток. Нарушение регуляции апоптоза приводит к возникновению различных заболеваний, связанных с усилением или, наоборот, ингибированием апоптоза. Следовательно, изучение механизмов регуляции различных этапов данного процесса позволит определенным образом воздействовать на его отдельные этапы с целью их регуляции или коррекции.

Литература

1. Аббасова С.Г., Липкин В.М., Трапезников Н.Н. Кушлинский Н.Е. Система Fas-FasL в норме и при патологии // Вопросы биол. мед. и фарм. химии 1999, №3, с.3-16.
2. Болдырев А.А. Нейрональные рецепторы в клетках иммунной системы // Природа, №7, 2005. с. 22-27.
3. Введение в молекулярную медицину. Под ред. М.А. Пальцева, М., Медицина, 2004, с.219-222.
4. Егорова И.Ф., Серов Р.А. Апоптоз и некроз: взаимоотношение явлений. // Морфология. – 2004, № 6. – С. 71-75.
5. Коган Е.А. Некроз в кн.: Патологическая анатомии: курс лекций. М.: Медицина, 1998, с. 81-93.
6. Певницкий Л.А. Программированная гибель клеток и апоптоз: значение для развития и функционирования иммунной системы, Вестн. РАМН 1996, №6. с.43-50.
7. Программированная клеточная гибель, под ред. Новикова В.С.. – СПб.: Наука, 1996.



8. Уманский С.Р. Апоптоз: молекулярные и клеточные механизмы // Молекулярная биология, 1996, том. 30. вып. 3, с. 487-502.
9. Харченко Е.П. Клименко М.Н. Пластичность и регенерация мозга // Неврологический журнал. 2006. Т. 11. №6. С. 37-46.
10. Харченко Е.П. Иммунное узнавание и иммунная привилегия // Иммунология. – 2008, т.28, №2. С. 118-124.
11. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // Иммунология 1996, т. 6, с. 10-23.
12. Buja L.M. and Entman M.L. Modes of myocardial cell injury and cell death in ischemic heart disease. Circulation, 1998 v.98, №14 p.1355-1357.
13. Mark P. Mattson, Nature Reviews Molecular Cell Biology 1, 2000, p.120-130

A VALUE OF IMMUNE SYSTEM IN DEVELOPMENT OF GENETICALLY PROGRAMMED DEATH OF NEURONS

Y.D. Gubarev
A.M. Kolesnikov

*Belgorod
State
University*

e-mail: Gubarev@bsu.edu.ru

Neuroimmunology is science, probing mechanisms and principles of integration of the immune and nervous systems at the different defeats of cerebrum. The analysis of seven researches of the last years is conducted, different indexes of immunity and their value devoted a study in development of apoptoza neurons of cerebrum.

Key words: immune system, apoptosis, necrosis, death of mews.