

О СООТНОШЕНИИ РАЗЛИЧНЫХ ПУТЕЙ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ НА ОТДЕЛЬНЫХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА В НОРМЕ И ПРИ СИСТЕМНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ

Шишкин В.И.¹, Назаров П.Г.^{2,3}, Маленков Ю.А.¹, Шишкин В.В.¹,
Кудрявцева Г.В.¹, Картунен А.А.¹

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

³ ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Цель работы – выявить количественные соотношения, существующие между путями клеточной смерти в норме и при диффузной иммунокомплексной патологии.

Соотношение различных путей клеточной смерти (аутофагия, апоптоз, некроз) при аутоиммунных системных заболеваниях соединительной ткани (СЗСТ) – ревматоидном артрите (РА), системной красной волчанке (СКВ) и системной склеродермии (ССД) подвержено возрастным изменениям. С одной стороны, процесс старения можно рассматривать как генетически детерминированное общее снижение адаптивного потенциала организма и системную реакцию хронического возрастного воспаления, с выраженным цитокиновым провоспалительным сдвигом. С другой – в основе мультисистемности и полиорганности функционально-метаболических нарушений при системных заболеваниях соединительной ткани лежит полигенное снижение энергоинформационной емкости клеток.

Анализировали плазму крови у пациентов двух возрастных групп. Первую группу составили: 10 больных СКВ (4 мужчин и 6 женщин, средний возраст 43,8 года), 13 больных РА (5 мужчин и 8 женщин, средний возраст 45,6 года), 7 ССД (женщины, средний возраст 35,8 года) и 10 здоровых доноров (6 мужчин и 4 женщины, средний возраст 40,7 года). Вторую (возрастную) группу составили: 9 больных СКВ (2 мужчины и 7 женщин, средний возраст 69,8 года), 10 больных РА (5 мужчин и 5 женщин, средний возраст 65,6 года), 5 больных ССД (женщины, средний возраст 65,7 года) и 12 здоровых доноров (нормальное биологическое старение – 7 мужчин и 5 женщин, средний возраст 64,7 года).

Представленные в настоящей работе материалы получены при информированном согласии пациентов на участие. При проведении научных биомедицинских исследований пользовались международно признанным этическим стандартом – Хельсинкской декларацией Международной медицинской ассоциации 1996 года, пересмотренной в 2013 г.

Выявлено тесное взаимодействие между путями клеточной смерти при СЗСТ (наиболее ярко выраженное при СКВ), сопряженное с возрастными изменениями и клиническими проявлениями аутоиммунного процесса. При СЗСТ проявляются все типы клеточной смерти, однако степень их вы-

Адрес для переписки:

Шишкин Виктор Иванович
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»
197375, Россия, Санкт-Петербург,
Университетская наб., 7/9.
Тел.: 8 (911) 913-96-17.
E-mail: visvi@mail.ru

Address for correspondence:

Shishkin Victor I.
St. Petersburg State University
197375, Russian Federation, St. Petersburg,
Universitetskaya emb., 7/9.
Phone: 7 (911) 913-96-17.
E-mail: visvi@mail.ru

Образец цитирования:

В.И. Шишкин, П.Г. Назаров, Ю.А. Маленков, В.В. Шишкин, Г.В. Кудрявцева, А.А. Картунен «О соотношении различных путей клеточной смерти на отдельных этапах онтогенеза в норме и при системных заболеваниях соединительной ткани» // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 4. С. 657-664. doi: 10.15789/1563-0625-RBV-1904
© Шишкин В.И. и соавт., 2020

For citation:

V.I. Shishkin, P.G. Nazarov, Yu.A. Malenkov, V.V. Shishkin, G.V. Kudryavtseva, A.A. Kartunen "Relationship between various pathways of cellular death at distinct stages of ontogenesis in normal state and systemic diseases of connective tissue", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2020, Vol. 22, no. 4, pp. 657-664. doi: 10.15789/1563-0625-RBV-1904
DOI: 10.15789/1563-0625-RBV-1904

раженности находится в зависимости от нозологической формы заболевания. Аутофагия в развитии системной диффузной патологии соединительной ткани (особенно в случае СКВ, а также РА) принимает непосредственное участие в формировании иммунного ответа и воспалительного процесса. При нормальном биологическом старении, так же как и при СЗСТ, наблюдается резкое возрастание активности метаболического триггера – аденозинмонофосфат-активированной протеинкиназы (АМРК) (сенсора внутриклеточной энергии), а также: смещается кислотно-щелочное равновесие, возрастает количество активных форм кислородных радикалов, изменяется red-ox потенциал клеток, идет активация компонентов клеточной деструкции, нарушается деятельность цитокиновой системы организма (цитокины – регуляторы апоптоза), снижается экспрессия шаперонов и смещается иммуно-оксигеназный гомеостаз. Ингибирование генетически детерминированного процесса гибели клеток – апоптоза – лежит в основе развития аутоиммунных заболеваний. Поздний апоптоз, протекающий во вторичный некроз, сопровождается снижением антиоксидантной защиты, развитием аутоиммунной патологии. Шаперон-опосредованная индукция иммунного ответа как сигнальный механизм аутофагии, закрепленный эволюционно только у млекопитающих, возможно, является общим центральным звеном и «молекулярным переключателем», вызывающим развитие как аутоиммунных заболеваний соединительной ткани, так и геронтологических процессов.

Ключевые слова: аутофагия, апоптоз, некроз, системная красная волчанка, системная склеродермия, ревматоидный артрит

RELATIONSHIP BETWEEN VARIOUS PATHWAYS OF CELLULAR DEATH AT DISTINCT STAGES OF ONTOGENESIS IN NORMAL STATE AND SYSTEMIC DISEASES OF CONNECTIVE TISSUE

Shishkin V.I.^a, Nazarov P.G.^{b,c}, Malenkov Yu.A.^a, Shishkin V.V.^a,
Kudryavtseva G.V.^a, Kartunen A.A.^a

^a St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

^b Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^c First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of our research was to reveal quantitative ratios existing between the pathways of cellular death in normal state, as well as in immunocomplex pathology. The proportion of different pathways of cell death (autophagy, apoptosis, necrosis) in autoimmune (systemic connective tissue diseases (SDCT) – rheumatoid arthritis (RA), systemic lupus erythematosus (SLE) and systemic scleroderma (SSD) is a subject of age-related changes. On the one hand, aging process can be considered a genetically determined overall decrease in adaptive potential of the body, and a systemic age-related chronic inflammatory response, with a pronounced cytokine proinflammatory shift. On the other hand, a polygenic decrease in energy and information capacity of the cells, represent the basis of multisystem and multiorgan functional and metabolic disorders in SDCT.

Blood plasma samples were analyzed in the patients of two age groups. The first group consisted of 10 SLE cases (4 men and 6 women, average age 43.8 years), 13 patients with RA (5 men and 8 women, average age 45.6 years), 7 SSD (women, average age 35.8 years), and 10 healthy donors (6 men and 4 women, average age 40.7 years). The second age group consisted of 9 SLE cases (2 men and 7 women, average age 69.8 years), 10 patients with RA (5 men and 5 women, average age 65.6 years), 5 patients with SSD (women, average age 65.7 years) and 12 healthy donors (normal biological aging – 7 men and 5 women, average age 64.7 years). The data presented in this paper were obtained with informed consent of the patients. When carrying out biomedical research, we followed internationally recognized ethical standards of the Helsinki Declaration (International Medical Association, 1996, revision 2013). The proportion of various cell death types (autophagy, apoptosis, necrosis) in autoimmune disorders (systemic diseases of connective tissue, SDCT), i.e., rheumatoid arthritis (RA), systemic lupus erythematosus (SLE), and systemic scleroderma (SSD) proved to be subject to age-dependent changes. Close interaction were revealed between the ways of cellular death in SDCT (most pronounced in SLE), correlating with age changes and clinical manifestations of autoimmune process. In SDCT, the affected tissues exhibit all types of cellular death, however, degree of their expression depends on the disease nosology. Upon systemic diffuse pathology of connective tissue, autophagy (especially in case of SLE and RA) is directly involved in development of immune response and inflammatory process.

In normal biological aging, like as in SDCT, one may observe a sharply increased activity of the metabolic trigger – AMP-activated protein kinase (AMPK), a sensor of intracellular energy, along with shifted acid-base

equilibrium. The quantity of active oxygen radicals increases, oxidoreductive potential of the cells is changed, with activation of cellular destruction components. Activity of cytokine system in the organism is changed causing apoptosis regulation; expression of chaperons is decreased, and the immune-oxygenase homeostasis is also displaced. Inhibition of genetically determined process of death of cells (apoptosis) comprises the basis for development of autoimmune diseases. Transition of late apoptosis into secondary necrosis is accompanied by decrease of antioxidant protection and development of autoimmune pathology. The chaperon-mediated induction of immune response as the signaling mechanism of autophagy, being evolutionarily fixed in mammals only, may be the common central link and “the molecular switch” causing both development of autoimmune diseases of connective tissue, and aging processes.

Keywords: autophagy, apoptosis, necrosis, systemic disease, lupus erythematosus

Введение

Вопрос о соотношении основных механизмов клеточной смерти при изучении аутоиммунной патологии, развивающейся при системных заболеваниях соединительной ткани в процессе старения организма, до настоящего времени остается актуальным и полностью не расшифрованным. С одной стороны, процесс старения можно рассматривать как генетически детерминированное общее снижение адаптивного потенциала организма и системную реакцию хронического возрастного воспаления с выраженным цитокиновым провоспалительным сдвигом [1]. С другой — в основе мультисистемности и полиорганнысти функционально-метаболических нарушений при системных заболеваниях соединительной ткани лежит полигенное снижение энерго-информационной емкости клеток.

Критически важной в плане лечения СЗСТ у пациентов разных возрастных групп является оценка степени дисфункции гепатоцитов, основанная на определении активности органоспецифического фермента печени — сорбитолдегидрогеназы (СДГ) — на фоне процессов внутриклеточной детоксикации и аутофагии.

Открываются все новые составляющие, характеризующие возрастную специфику диффузных нейроиммуноэндокринных изменений в тканях [1, 6, 7]. Однако не делается попыток связать имеющиеся фактические материалы с тераностикой старения и особенностями развития комплексной аутоиммунной патологии при старении, а также оценить вклад в этот процесс механизмов клеточной смерти (аутофагия, апоптоз, некроз), определяющих в конечном счете реакции патологического гистогенеза [2, 3, 4, 5] в развитии иммунопатологического процесса при системных заболеваниях соединительной ткани.

Материалы и методы

Представленные в настоящей работе материалы получены при информированном согласии пациентов на участие. При проведении научных биомедицинских исследований пользовались международно признанным этическим стандар-

том — Хельсинкской декларацией Международной медицинской ассоциации 1996 года, пересмотренной в 2013 году.

Анализировали плазму крови у пациентов двух возрастных групп. Первую группу составили 10 больных системной красной волчанкой (СКВ) (4 мужчин и 6 женщин, средний возраст $43,8 \pm 2,2$ года), 13 больных ревматоидным артритом (РА) (5 мужчин и 8 женщин, средний возраст $45,6 \pm 2,7$ года), 7 больных системной склеродермией (ССД) (женщины, средний возраст $35,8 \pm 4,6$ года) и 10 здоровых доноров (6 мужчин и 4 женщины, средний возраст $40,7 \pm 3,4$ года). Вторую (возрастную) группу составили 9 больных СКВ (2 мужчины и 7 женщин, средний возраст $69,8 \pm 4,2$ года), 10 больных РА (5 мужчин и 5 женщин, средний возраст $65,6 \pm 5,2$ года), 5 больных ССД (женщины, средний возраст $65,7 \pm 5,6$ года) и 12 здоровых доноров (нормальное биологическое старение — 7 мужчин и 5 женщин, средний возраст $64,7 \pm 4,7$ года).

Уровень ионов кальция регистрировали методом атомной абсорбционной спектрофотометрии на атомном абсорбционном спектрофотометре Hitachi-207 (Япония). Активность аденозинмонофосфат-активированной протеинкиназы (АМПК) оценивали методом Western blotting.

По уровню суммарной АТФ-азной активности, определяемой спектрофотометрически, судили косвенно о метаболической динамике семейства белков-шаперонов HSP60 — HSP100. Уровень белка p53 анализировали иммуноферментным методом с использованием набора “Human p53 Platinum ELISA” (eBioscience, США). Оценку содержания 8-гидрокси-2-деоксигуанозина (8-OH-dG) проводили иммуноферментным методом с использованием набора “8 hydroxy-2-deoxyGuanosine EIA Kit” (Cayman Chemical, США) в соответствии с рекомендациями производителя.

Количественное определение цитохрома С (Cyt c) осуществляли иммуноферментным методом с использованием набора “Human Cytochrome c Platinum ELISA” (eBioscience, США).

Активность сорбитолдегидрогеназы (SDG) определяли спектрофотометрически.

Регистрацию активных форм кислорода проводили при помощи метода электронного парамагнитного резонанса.

Уровень адениловых нуклеотидов оценивали хроматографически.

Содержание белка в плазме крови определяли при помощи коммерческого набора препаратов "Nano Orange Protein Quantitation kit" (Invitrogen, США) согласно прилагаемой прописи фирмы.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программного пакета Statistica 6.0 for Windows.

Результаты и обсуждение

Аутофагия, как процесс эволюционно консервативный, принимающий непосредственное участие в формировании иммунного ответа [10, 18] и определяющий динамику и патогенез диффузных болезней, протекает с различной скоростью при СКВ, РА и ССД и зависит от возраста пациентов (табл. 1). Очевидное объяснение этому заключается в системности, полиорганности, степени остроты и выраженности полисиндромного процесса при этих ревматологических заболеваниях, что определяется эндоэргичностью воспалительных и иммунных реакций, лежащих в их основе [19] и проявляющих выраженную возрастную динамику. Так, функциональная активность АМПК (фермента, являющегося, по сути, сенсором внутриклеточной энергии и метаболическим маркером аутофагии, а также специфическим индикатором окислительно-восстановительного потенциала клетки) проявляется при СЗСТ особенно ярко у пациентов первой группы при СКВ и РА, превышая уровень нормы в 6,8 и 5,2 раза соответственно. С возрастом активность АМПК увеличивается, но на фоне СКВ и РА она превышает норму в среднем только в 2 раза.

Нарушение процессов шаперон-зависимого фолдинга белков, деструкция тканевых структур и клеточных органелл в процессе старения и при ревматологических заболеваниях сопровождаются выходом в кровяное русло митохондриальных изоферментов [16, 18]. Деэнергизация клеток при старении, усугубляющаяся на фоне системных заболеваниях соединительной ткани, нарастающего разобщения процессов дыхания с окислительным фосфорилированием, приводит к выходу из митохондрий проапоптотического белка межмембранного пространства — цитохрома С, повышенное содержание которого отражает апоптотическую гибель клеток по митохондриальному пути и свидетельствует о сравнительном нарастании гипоксии при старении и на фоне развития СКВ и РА (табл. 1).

Окислительный стресс при аутоиммунных заболеваниях соединительной ткани сопровождается кальциурией и нарастанием уровня кальция

в крови, что отражает степень тяжести остеопороза, в особенности при СКВ. Нарушение нормального гомеостаза свободного ионизированного кальция на фоне СЗСТ является сигнальным механизмом запуска апоптотического митохондриального каскада [8, 11, 17] (табл. 1).

Белки-шапероны (HSP), присутствующие не только в цитоплазме клеток, но также во внеклеточном пространстве и биологических жидкостях человека, играют ключевую роль в переключении программ гибели клеток [3, 12, 18]. Проведенные нами исследования свидетельствуют о том, что АТФ-азная активность семейства шаперонов HSP60 — HSP100 с возрастом снижается. При этом выход цитохрома С из митохондрий при старении организма увеличивается (табл. 1). Следовательно, у возрастной группы пациентов (группы № 2) по сравнению с первой группой тормозится процесс передачи апоптотического сигнала и снижается протекторная шаперонная активность, наиболее выраженная при СКВ и РА. Являясь биологическими маркерами неблагоприятного состояния организма, HSP ориентированы на поддержание функционально компетентного конформационного гомеостаза белков [5]. Очевидно, что старение организма снижает остроту иммунопатологического процесса при СЗСТ, при этом отмечается некая общность его развития, наиболее ярко проявляющаяся при СКВ. Важно, что при этом уровень белка p53 — важнейшего опухолевого супрессора и биомаркера апоптоза (циркулирующего между ядром и цитоплазмой, который экспрессируется при деструкции ДНК, отражает более высокую степень окислительного повреждения ДНК, увеличивает экспрессию гена, кодирующего лизосомальные мембранные белки, индуцирующие макроаутофагию и выраженность окислительного стресса) — значительно увеличивается с возрастом и на фоне развития именно СКВ и в меньшей степени при РА и ССД (табл. 1) [17]. Об этом свидетельствуют также данные по определению уровня 8-ОН-dG как биомаркера свободно-радикального повреждения ДНК и данные по определению уровня активных форм кислородных радикалов (табл. 1, 2).

Аутофагия при СКВ и РА принимает непосредственное участие в развитии иммунного ответа и воспалительного процесса особенно у пациентов группы 43-45 лет: наблюдается резкое возрастание активности метаболического триггера — АМПК (сенсора внутриклеточной энергии), а также: смещается кислотно-щелочное равновесие, возрастает количество активных форм кислородных радикалов, изменяется редокс потенциал клеток гепатоцитов. Отметим, что смещение рН крови (в среднем от 7,5 в норме до 6,7 при СКВ) и окислительный стресс включают синтез шаперонов. Уровень адениловых нуклео-

ТАБЛИЦА 1. НЕКОТОРЫЕ МАРКЕРЫ АУТОФАГИИ, АПОПТОЗА И НЕКРОЗА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С СЗСТ (M±m)

TABLE 1. SOME MARKERS OF AUTOPHAGY, APOPTOSIS AND NECROSIS IN THE BLOOD SERUM OF HEALTHY DONORS AND PATIENTS WITH SDCT (M±m)

Группа № 1 Group No. 1	АМПК (усл. ед./мг белка) АМПК (cond. unit/mg protein)	АТФ-азная активность (нМ Ф неорг./ мин·мг белка) АТP-ase activity (nM P _i /min·mg protein)	Уровень ионов кальция (мМ) Ca-ion level (mM)	Цитохром С (нг/мл) Cyt c (ng/ml)	p 53 (нг/мл) p 53 (ng/ml)	8-ОН-dG (нг/мл) 8-OH-dG (ng/ml)
Норма (10) Norm	1,6±0,4	4,4±0,5	2,85±0,56	13,4±0,4	0,87±0,09	14,5±1,4
СКВ (10) SLE	10,8±0,3***	9,7±0,3**	3,79±0,19*	43,7±1,9***	1,63±0,07*	31,9±3,4**
РА (13) RA	8,3±0,6***	8,9±0,2*	3,28±0,17*	31,3±4,7**	1,37±0,06*	25,2±2,9*
ССД (7) SSD	3,8±0,6**	6,1±0,4*	2,51±0,24	16,9±2,9	0,88±0,04	19,7±3,8*
Группа № 2 Group No. 2						
Норма (12) Norm	4,4±0,3	2,1±0,3	2,12±0,56	20,9±0,7	1,57±0,23	24,5±1,9
СКВ (9) SLE	8,8±0,6**	4,7±0,3*	3,72±0,15*	58,8±4,3***	2,99±0,07*	39,8±3,7*
РА (10) RA	6,6±0,7*	3,9±0,2*	3,19±0,06*	49,3±4,6**	1,97±0,08	29,6±2,4
ССД (5) SSD	4,8±0,5	2,9±0,4	2,58±0,21	28,6±5,9*	1,88±0,04	25,7±3,9

Примечание. СЗСТ – системные заболевания соединительной ткани; АМПК – 5'АМФ-активируемая протеинкиназа; p53 (белок p53) – транскрипционный фактор, регулирующий клеточный цикл; 8-ОН-dG – 8-гидрокси-2-деоксигуанозин; СКВ – системная красная волчанка; РА – ревматоидный артрит; ССД – системная склеродермия. Различия со здоровыми лицами соответствующей группы: * – p < 0,05; ** – p < 0,01; *** – p < 0,001.

Note. CDST, connective tissue diseases; АМПК, 5'AMP activated protein kinase; Cyt c, cytochrome c; p53 (protein p53), transcription factor regulating cell cycle; 8-OH-dG, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine; SLE, systemic lupus erythematosus; RA, rheumatoid arthritis; SSD, systemic scleroderma. Differences with healthy individuals of the corresponding group: *, p < 0.05; **, p < 0.01; ***, p < 0.001.

тидов при этом закономерно изменяется: значительно увеличивается содержание АМР, снижается АDР и АТР, особенно резко при СКВ [19]. Биохимические механизмы развития воспалительных и иммунных процессов при системных заболеваниях соединительной ткани требуют высоких энергозатрат. Блокирование аутофагии приводит к накоплению в цитоплазме поврежденных митохондрий, супероксидных анионов, развитию генерализованного иммуно-воспалительного процесса [6, 9, 12]. Именно аутофагия в развитии системной диффузной патологии соединительной ткани (особенно в случае СКВ, а также РА) принимает непосредственное участие в формировании иммунного ответа и развитии воспалительного процесса. Наблюдается

резкое возрастание активности метаболического триггера – АМПК (сенсора внутриклеточной энергии), а также: смещается кислотно-щелочное равновесие, возрастает количество активных форм кислородных радикалов, изменяется ред-ox потенциал клеток, идет активация компонентов клеточной деструкции, нарушается деятельность цитокиновой системы организма (цитокины – регуляторы апоптоза), повышается экспрессия шаперонов и смещается иммунооксигеназный гомеостаз (табл. 1, 2). Отметим, что активность АМПК и уровень цитохрома С, выраженные как в абсолютных, так и в относительных величинах, при системных заболеваниях соединительной ткани претерпевают наиболее резкие сдвиги по сравнению с другими анализируемыми в рабо-

ТАБЛИЦА 2. АКТИВНОСТЬ СОРБИТОЛДЕГИДРОГЕНАЗЫ (СДГ), СОДЕРЖАНИЕ АДЕНИЛОВЫХ НУКЛЕОТИДОВ, УРОВЕНЬ АКТИВНЫХ ФОРМ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ И PH В ПЛАЗМЕ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ СЗСТ (M±m)

TABLE 2. ACTIVITY OF SDH, THE CONTENTS ADENILNUCLEOTIDES, THE LEVEL OF ACTIVE FORMS OF OXYGEN RADICALS AND PH IN BLOOD PLASMA IN NORM AND AT SDCT (M±m)

Группа № 1 Group No. 1	СДГ (МЕ) SDH (IU)	АМФ (нМ/мл) AMP (nM/ml)	АДФ (нМ/мл) ADP (nM/ml)	АТФ (нМ/мл) ATP (nM/ml)	АФСР (ед./мг белка) AFRF (unit/mg protein)	pH
Норма (10) Norm	0,8±0,1	54-98 (76)	180-320 (250)	1670-1890 (1780)	12,7±4,3	7,4-7,5
СКВ (10) SLE	26,6±0,8***	180-240 (210)**	90-110 (100)**	830-930 (880)**	54,6±3,6 ***	6,8-7,0*
РА (13) RA	13,8±0,9***	97-129 (113)**	110-158 (134)**	1030-1185 (1107,5)*	26,8±4,0**	7,0-7,3*
ССД (7) SSD	3,12±0,73**	87-110 (98,5)*	210-340 (275)	1530-1625 (1578)	15,8±4,1	7,3-7,4
Группа № 2 Group No. 2						
Норма (12) Norm	2,4±0,3	44-65 (54,5)	155-256 (205,2)	1290-1480 (1385)	20,8±4,2	7,2-7,4
СКВ (9) SLE	10,7±0,4***	27-35 (31)*	72-104 (88)***	530-730 (630)*	41,6±3,7**	6,7-6,9*
РА (10) RA	8,2±0,7***	39-42 (40,5)*	119-137 (128)*	830-985 (907,5)*	31,7±3,6*	6,9-7,0*
ССД (5) SSD	4,1±0,3*	41-54 (47,5)	154-243 (198,5)	1116-1290 (1203)	27,8±5,4*	7,0-7,2

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. As for Table 1.

те биохимическими показателями (табл. 1). При этом величина отношения АМРК/Сyt с при всех изученных в работе аутоиммунных заболеваниях в среднем вдвое превышает уровень нормы. Это свидетельствует о том, что выраженность дифференциальной генетической экспрессии при различных нозологических формах аутоиммунной патологии имеет в целом сходные механизмы регуляции, которые формируют на основе количественных изменений ферментативной активности новое, специфическое для каждой нозологической формы ревматологического заболевания аутоиммунное качество. Подчеркнем особо, что направленность и динамика иммунновоспалительного процесса при старении и на фоне развития ревматологических заболеваний, несмотря на качественные и количественные различия и особенности, имеют сходную патологическую иммунновоспалительную компоненту, обеспечивающую едиными механизмами аутоиммунную природу ревматологических болезней и геронтологические процессы. Отметим также, что нарастает клеточная деструкция гепатоцитов, о чем свидетельствует резкое возрастание активности СДГ в крови больных (табл. 2) вследствие

нарушения плазматической мембраны гепатоцитов. Можно утверждать, что печень при развитии СКВ и РА включается в общий иммунопатологический процесс, а резко выраженная аутофагия (наряду с апоптозом и некрозом) приводит к массовой гибели гепатоцитов и выходу в кровяное русло продуктов их деградации. При СКВ и РА не только инфекционные агенты и молекулярные паттерны патогенов (pathogen-associated molecular patterns), но и продукты повреждения гепатоцитов (damage-associated molecular patterns) вызывают и усиливают генерализованный иммунный ответ и воспаление, особенно ярко проявляющиеся у пациентов первой группы. В отличие от этого при ССД склеротические изменения в сосудах, в том числе и на уровне микроциркуляции, затрудняют выход СДГ в кровь, что отмечено у пациентов двух обследованных групп.

Заключение

Молекулярные механизмы и специфика развития СКВ, РА и ССД определяются, по-видимому, в том числе и различным соотношением исследованных типов клеточной смерти. Полученные в работе материалы свидетельствуют

о том, что при аутоиммунных заболеваниях соединительной ткани проявляются все типы клеточной смерти, однако степень их выраженности находится в зависимости от нозологической формы заболевания. Ингибирование генетически детерминированного процесса гибели клеток — апоптоза — лежит в основе развития как аутоиммунных заболеваний, так и процессов старения. Поздний апоптоз, перетекающий во вторичный некроз, сопровождается снижением антиоксидантной защиты, развитием аутоиммунной патологии, особенно выраженной при СКВ. Соотношение различных механизмов клеточной смерти (аутофагия, апоптоз, некроз) в крови больных системными заболеваниями соединительной ткани может явиться важным диагностическим и прогностическим показателем при выборе тактики и стратегии медикаментозной терапии. Проведение такой диагностики на молекулярном уровне особенно значимо в случаях с минимальной активностью иммунопатологического процесса, когда клинические проявления системных заболеваний еще не достаточно выражены.

Критически важным как в геронтологии, так и в лечении ревматологических заболеваний является подход с точки зрения эволюционной перспективы изыскания мишеней терапевтического воздействия среди компонентов системы клеточной деструкции [6, 13, 14]. Отмеченная нами возрастная недостаточность функционирования мо-

лекулярных шаперонов класса HSP60 — HSP100 (оцененная косвенно по суммарной АТФ-азной активности, то есть по способности гидролизовать АТФ, снабжая энергией процесс свертывания полипептидной цепи) отражает снижение по мере старения организма способности адекватно реагировать на стрессорные реакции, поддерживать гомеостаз и гомеокинез и формировать правильную, генетически детерминированную пространственную архитектуру белковых молекул. Доказанным является существование шаперон-зависимой аутофагии как механизма поддержания нормальной жизнедеятельности клетки в генно-регуляторных контурах управления и присутствие конформационной патологии в виде агрегированных и денатурированных белков в стареющих клетках при функциональных нарушениях механизмов шаперон-зависимой аутофагии [5, 11]. Шаперон-опосредованная (HSP70 и HSP90) индукция иммунного ответа как сигнальный механизм аутофагии, закрепленный эволюционно только у млекопитающих, возможно, является центральным звеном и «молекулярным переключателем» одной программы гибели клеток на другую [5, 15, 20], запускающим аутоиммунные системные заболевания соединительной ткани и геронтологические процессы [19].

Авторы внесли равный вклад в работу. Конфликт интересов отсутствует. Дополнительное финансирование не привлекалось.

Список литературы / References

1. Голубев А.Г. Биология продолжительности жизни и старения. СПб.: Н-Л, 2015. 384 с. [Golubev A.G. *Biology of life expectancy and aging*. St. Petersburg: N-L, 2015. 384 p.]
2. Дворяшина И.А., Великородная Ю.И., Почепцов А.Я. Современный взгляд на механизмы и классификацию клеточной гибели // Вестник ВГУ, 2016. Т. 59. С. 137-138. [Dvoryashina I.A., Velikorodnaya Yu.I., Pochepstov A.Ya. *Modern view on mechanisms and classification of cellular death*. *Vestnik VGU = Voronezh State University Bulletin*, 2016, Vol. 59, pp. 137-138. (In Russ.)]
3. Деев Р.В., Билялов А.И., Жампеисов Т.М. Современные представления о клеточной гибели // Гены и Клетки, 2018. Т. 13, № 1. С. 6-19. [Deyev R.V., Bilyalov A.I., Zhampeisov T.M. *Modern ideas of cellular death*. *Geny i Kletki = Genes and Cells*, 2018. Vol. 13, no. 1, pp. 6-19. (In Russ.)]
4. Ковалева О.В., Шитова М.С., Зборовская И.Б. Аутофагия: клеточная гибель или способ выживания? // Клиническая онкогематология, 2014. Т. 7, № 2. С. 103-113. [Kovalyova O.V., Shitov M.S., Zborovskaya I.B. *Autophagy: cellular death or way of survival?* *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology*, 2014, Vol. 7, no. 2, pp. 103-113. (In Russ.)]
5. Курганов Б.И. Оценка активности молекулярных шаперонов в тест-системах, основанных на подавлении агрегации белков // Успехи биологической химии, 2002. Т. 42. С. 89-138. [Kurganov B.I. *Assessment of activity of molecular chaperons in the test systems based on suppression of aggregation of proteins*. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances in Biological Chemistry*, 2002, Vol. 42, pp. 89-138. (In Russ.)]
6. Кутукова Н.А., Назаров П.Г., Кудрявцева Г.В., Шишкин В.И. Тучные клетки и старение // Успехи геронтологии, 2016. Т. 29, № 4. С. 586-593. [Kutukova N.A., Nazarov P.G., Kudryavtseva G.V., Shishkin V.I. *Mast cells and aging*. *Uspekhi gerontologii = Advances in Gerontology*, 2016, Vol. 29, no. 4, pp. 586-593. (In Russ.)]
7. Насонов Е.Л. Ревматология. Национальное руководство по ревматологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 720 с. [Nasonov E.L. *Rheumatology. National guide to rheumatology*. Moscow: GEOTAR-Media, 2010. 720 p.]
8. Fatokun A.A., Dawson V.L., Dawson T.M. Parthanatos: mitochondrial-linked mechanisms and therapeutic opportunities. *Br. J. Pharmacol.*, 2014, Vol. 171, no. 8, pp. 2000-2016.
9. Forsythe P. Microbes taming mast cells: Implications for allergic inflammation and beyond *Eur. J. Pharmacol.*, 2016, Vol. 778, pp. 169-175.
10. Galluzzi L., Bravo-San Pedro J., Vitale I. Essential versus accessory aspects of cell death: recommendations of the NCCD. *Cell Death Differ.*, 2015, Vol. 22, no. 1, pp. 58-73.

11. Galluzzi L., Vitale I., Aaronson S. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the nomenclature committee on cell death. *Cell Death Differ.*, 2018, Vol. 25, pp. 486-541.
12. Gomez-Sintes R., Ledesma M., Boya P. Lysosomal membrane permeabilization and cell death. *Ageing Res. Rev.*, 2016, Vol. 32, pp. 150-168.
13. Gomez C., Nomellini V., Faunce D., Kovacs E. Innate immunity and aging. *Exp. Gerontol.*, 2008, Vol. 43, no. 8, pp. 718-728.
14. Grazi F., di Caro G., Laghi L. Mast cells and the liver aging process. *Immun. Ageing*, 2013, Vol. 10, no. 1, pp. 9-15.
15. Gutierrez-Arcelus M., Rich S., Raychaudhuri S. Autoimmune diseases-connecting risk alleles with molecular traits of the immune system. *Nat. Rev. Genet.*, 2016, Vol. 17, pp. 160-174.
16. Kroemer G., Galluzzi L., Vandenabeele P. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ.*, 2009, Vol. 16, pp. 3-11.
17. Kudriavtseva G.V., Shishkin V.I., Shishkin V.V., Malenkov Y.A. Electrokinetic characteristics of synoviocytes (SC) and the level of antioxidant protection in rheumatoid arthritis (RA). *Ann. Rheum. Dis.*, 2017, Vol. 76, no. 6, pp. 1077-1078.
18. Levine B., Mizushima N., Virgin H. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*, 2011, Vol. 469, no. 7330, pp. 323-335.
19. Shishkin V.I., Shishkin V.V., Malenkov Y.A., Kudriavtseva G.V. Adenosinmonophosphat-activating protein kinase (AMFK) – the biopower regulator of an autophagy in rheumatoid arthritis (PA). *Ann. Rheum. Dis.*, 2017, Vol. 76, no. 6, pp. 507-508.
20. Zhang J., Guo L., Zhou X. Dihydroartemisinin induces endothelial cell anoikis through the activation of the JNK signaling pathway. *Oncol. Lett.*, 2016, Vol. 12, no. 3, pp. 1896-1900.

Авторы:

Шишкин В.И. – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой диагностики функциональных систем факультета прикладной математики – процессов управления ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Назаров П.Г. – д.м.н., профессор, заведующий отделом иммунологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; профессор, ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Маленков Ю.А. – д.э.н., профессор кафедры управления и планирования социально-экономических процессов экономического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Шишкин В.В. – д.э.н., доцент кафедры диагностики функциональных систем факультета прикладной математики – процессов управления ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Кудрявцева Г.В. – д.б.н., профессор кафедры диагностики функциональных систем факультета прикладной математики – процессов управления ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Картунен А.А. – ассистент кафедры диагностики функциональных систем факультета прикладной математики – процессов управления ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Shishkin V.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Diagnostics of Functional Systems, Faculty of Applied Mathematics/Management Processes, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Nazarov P.G., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology, Institute of Experimental Medicine; Professor, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Malenkov Yu.A., PhD, MD (Economics), Professor, Department of Management and Planning of Social and Economic Processes, Economics Department, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Shishkin V.V., PhD, MD (Economics), Associate Professor, Department of Diagnostics of Functional Systems, Faculty of Applied Mathematics/Management Processes, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Kudryavtseva G.V., PhD, MD (Biology), Professor, Department of Diagnostics of Functional Systems, Faculty of Applied Mathematics/Management Processes, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Kartunen A.A., Assistant Professor, Department of Diagnostics of Functional Systems, Faculty of Applied Mathematics/Management Processes, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation