

DOI: 10.15825/1995-1191-2015-1-147-156

## ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО И РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧКИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МИШЕНИ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

*А.В. Ватазин, И.В. Нестеренко, А.Б. Зулкарнаев, Н.Л. Шахов*

ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

Ишемическое и реперфузионное повреждение является сложным многофакторным процессом, повреждающим почечный трансплантат. Знание и понимание патогенетических механизмов процессов повреждения позволяет применять различные биологические агенты для снижения данного повреждения. Однако применение большинства биологических агентов остается пока еще только в эксперименте. Цель данного обзора – показать участников патогенетических механизмов, главным образом воспалительных медиаторов (цитокинов, хемокинов), их взаимодействие и последствия их повреждающего воздействия на ткань почечного трансплантата.

*Ключевые слова: ишемическое и реперфузионное повреждение, Толл-подобные рецепторы, нуклеарный фактор – κВ, цитокины, хемокины.*

## PATHOGENETIC MECHANISMS OF THE DEVELOPMENT OF ISCHEMIC AND REPERFUSION DAMAGE THE KIDNEYS AS A PROMISING TARGET SPECIFIC THERAPY

*A.V. Vatazin, I.V. Nesterenko, A.B. Zulkarnaev, N.L. Shakhov*

Government Budget Health Institution of Moscow region «M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research Clinical Institute», Moscow, Russian Federation

Ischemic and reperfusion injury is a complex, multifactorial process that damage kidney transplant. Knowledge and understanding of pathogenic mechanisms of damage processes allows the use of various biological agents to reduce this damage. However, the application of most of biological agents is still only in the experiment. The purpose of this survey show participants of pathogenetic mechanisms, mainly inflammatory mediators (cytokines, chemokines), their interactions, and the consequences of their damaging effects on the fabric kidney transplant.

*Key words: ischemic and reperfusion injury, Toll-like receptors, NF-κB, cytokines, chemokines.*

Трансплантация почки является оптимальным методом заместительной почечной терапии. В иммуносупрессии достигнуты значительные успехи, что позволило снизить остроту иммунологического конфликта и риск развития острого отторжения. В то же время трансплантат неизбежно подвергается и неиммунологическим повреждающим факторам, наиболее значимым из которых является ишемическое и реперфузионное повреждение трансплантируемого органа.

Известно, что в результате ишемического и реперфузионного повреждения запускается каскад

иммунных реакций, проявляющихся системной воспалительной реакцией, направленной на развитие острого криза отторжения, что является дополнительным повреждающим фактором. В то же время уменьшение тяжести реперфузионного повреждения приводит к снижению иммуногенности трансплантата: подавляется избыточная экспрессия трансплантационных антигенов, молекул адгезии, провоспалительных цитокинов [1].

Ишемическое повреждение в первую очередь влияет на структуру и функцию клеток канальцевого эпителия, в тяжелых случаях проявляется

**Для корреспонденции:** Зулкарнаев Алексей Батыргараевич. Адрес: 129337, г. Москва, Ярославское ш., д. 26/6, 189. Тел. (495) 684 57 91. E-mail: 7059899@gmail.com.

**For correspondence:** Zulkarnaev Alexey Batyrgaraevich. Address: 26/6, 189, Yaroslavl sh., Moscow, 129337, Russian Federation. Tel. (495) 684 57 91. E-mail: 7059899@gmail.com.

некрозом. Более того, ишемия вызывает интерстициальное воспаление и интерстициальную микровазкулопатию, а также инфильтрацию ткани трансплантата воспалительными клетками [2].

Согласно классическому представлению, острая ишемия ведет к активации эндотелия сосудов трансплантата с увеличением их проницаемости и экспрессии молекул адгезии и других регуляторных молекул, в частности – цитокинов. Эти молекулы важны для инфильтрации эффекторными клетками постишемической ткани трансплантата. Их избыточная продукция является результатом активации ядерных факторов транскрипции, например – NF- $\kappa$ B (нуклеарный фактор  $\kappa$ B). В результате поверхность эндотелия становится тромбогенной и адгезивной. Первично ишемизированные эндотелиальные клетки становятся склонны к лейкоцитарной и тромбоцитарной адгезии, что проявляется в виде значительно повышенной эндотелиальной проницаемости и развитии микротромбозов. Адгезированные лейкоциты мигрируют в субэндотелиальную поверхность и высвобождают активные формы кислорода и различные цитокины, тем самым еще больше увеличивая воспалительную реакцию. Происходит истощение энергических запасов клеток, нарушается ионный гомеостаз, что в конечном итоге приводит к гибели клеток. Клинически это проявляется отсроченной функцией трансплантата с последующим длительным периодом восстановления [3].

Ишемия и реперфузия инициируют каскад иммунологических реакций. Активируется нативный иммунитет, причем такой иммунный ответ является антигеннезависимым. В экспериментальных моделях ишемия вызывала инициацию воспалительного ответа в трансплантированном органе, посредством сигнала через Toll-like receptor (TLR). TLRs – семейство рецепторов, которые активируются специфическими компонентами микробной клетки, а также другими молекулами, например DAMP – (damage-associated molecular protein). Эти рецепторы представляют собой «первую линию защиты» против многих патогенов и играют центральную роль в функционировании нативного иммунитета. Они экспрессируются различными типами клеток, и что особенно важно – антигенпрезентирующими клетками (APC): макрофагами и дендритными клетками (DC), а также В-клетками. В результате сигнала трансдукции, полученного через TLRs, активируются факторы транскрипции, такие как NF- $\kappa$ B. Активация этих факторов ведет к стимул-специфической экспрессии генов, что проявляется продукцией воспалительных цитокинов и хемокинов, компонентов комплемента, миграцией клеток к очагу повреждения.

Ключевая роль активации TLR в патогенезе ишемического и реперфузионного повреждения была

подтверждена современными исследованиями в экспериментальных моделях. В результате активации NF- $\kappa$ B в ядрах различных клеток значительно усиливается местная продукция TNF $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 и других цитокинов, также NO-синтетазы и ICAM-1. Отмечено, что гипоксия заметно увеличивает экспрессию TLR. Одним из эндогенных лигандов TLR является HSP60 (белок теплового шока), образуемый в результате гипоксического повреждения тканей. Белки теплового шока (HSPs) являются внутриклеточными шаперонами, играющими важную роль в деградации, внутриклеточном транспорте и ренатурации белков. При продолжительном действии повреждающего фактора происходит некроз клеток и HSP поступает во внеклеточное пространство и может активировать TLR. Первоначально были изучены и описаны HSP60, 70, 90. Иммуностимулирующая и воспалительная активность этих молекул опосредована через TLR2,4.

Дополнительными молекулами, образующимися при повреждении клеток и способными стимулировать TLR, являются фрагменты ДНК, РНК, интерферона  $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , CD40L, видоизмененные липопротеины низкой плотности, высокомолекулярный групповой хромосомальный протеин 1 (HMGB1), а также экстрацеллюлярные компоненты матрикса (табл. 1) [3, 4].

Бигликаны (небольшие богатые лецитином протеогликаны) являются агонистами TLR2 и TLR4. Они способны инициировать внутриклеточные сигналы, способствующие усугублению ишемического/реперфузионного повреждения. Бигликан-опосредованная активация TLR2, TLR4 также инициирует воспалительный ответ в нативных почках, что приводит к повышению локальной концентрации цитокинов и хемокинов и рекрутизации воспалительных клеток. Избыточная экспрессия растворимых форм бигликанов при ишемическом/реперфузионном повреждении приводит к росту концентрации ФНО $\alpha$  (фактора некроза опухолей  $\alpha$ ), хемокинов (CXCL1, CCL2 и CCL5) как в плазме крови, так и локально – в почечной паренхиме. Как следствие увеличивается миграция нейтрофилов, макрофагов и Т-клеток в паренхиму. В результате значительно ухудшается почечная функция. Введение бигликана мышам с искусственным дефицитом TLR2 и TLR4 не приводило к повышению тяжести ишемического/реперфузионного повреждения. Таким образом, сигналы, генерируемые взаимодействием бигликана и TLR2, TLR4, могут представлять новые терапевтические мишени для профилактики и лечения ишемического/реперфузионного повреждения [5].

При тканевом стрессе или повреждении бигликан протеолитически освобождается из экстрацеллюлярного матрикса и становится способным

Таблица 1

**Толл-подобные рецепторы, их лиганды и последствия активации**

Лиганды	TLR	Эффект активации
Белки теплового шока: HPS60, HPS70, HPS96	TLR2, TLR4	Созревание дендритных клеток, повышение цитокиновой продукции через активацию NF- $\kappa$ B
Компоненты матрикса: фибронектин, фибриноген, гепарин, гиалуроновая кислота, бигликаны	TLR4	Созревание дендритных клеток, индукция провоспалительных генов
Продукты некротических клеток	TLR2, TLR4	Созревание дендритных клеток, повышение цитокиновой продукции через активацию NF- $\kappa$ B, активация генов адаптогенных и регеративных белков.
Антимикробные пептиды hBD1, hBD2, hBD3	TLR4	Активация NF- $\kappa$ B, рекрутизация DC и Т-клеток

взаимодействовать с TLR. При взаимодействии бигликана и TLR2/4 на макрофагах и дендритных клетках происходит каскадная активация киназ p38 и ERK (внеклеточная сигнал-регулируемая киназа), что приводит к активации NF- $\kappa$ B и последующей индукции синтеза провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- $\alpha$  [6, 7]. Считается, что повышенное образование бигликана связано с тяжестью дисфункции органа при ишемическом/реперфузионном повреждении [6–8]. В экспериментальных моделях бигликан индуцирует синтез хемоаттрактантов, а именно CCL2, 5, 13 на макрофагах и дендритных клетках. Таким образом обеспечивается миграция нейтрофилов, макрофагов, Т- и В-клеток в трансплантат [6, 8]. Бигликан усиливает воспаление и выраженность повреждения в органе через TLR2/4 [8], и наоборот, недостаток бигликана сокращает цитокиновую и хемокиновую продукцию, приводя к уменьшению тяжести ишемического/реперфузионного повреждения [9].

Ишемическое повреждение приводит к генерации активных форм кислорода (ROS) и повреждению эндотелия. Также отмечается усиление лейкоцит-эндотелиальных взаимодействий с увеличением экспрессии молекул межклеточной адгезии, таких как ICAM1, Р- и Е-селектины, V71, что сопровождается проникновением нейтрофилов и макрофагов в гликокаликс из эндотелия. Активные радикалы кислорода также могут активировать TLRs, причем даже в отсутствие любых лигандов [10].

Механизмы повреждающего действия ROS в рамках ишемии представлены на рис. 1. Ишемия приводит к быстрой деградации аденозинтрифосфата (АТФ) до аденозиндифосфата (АДФ) и аденозинмонофосфата (АМФ). При длительной ишемии АМФ метаболизируется до адениннуклеотидов и гипоксантина. Накопление гипоксантина способствует генерации ROS. Адениннуклеотиды свободно диффундируют из клетки, и их истощение препятствует повторному синтезу АТФ при реперфузии. Снижение концентрации АТФ приводит к уменьшению секвестрации кальция в эндоплазматической сети, а также к снижению выхода внутриклеточного кальция во внеклеточное пространство, что при-

водит к значительному повышению концентрации внутриклеточного кальция и активации протеиназ и фосфолипаз с разрушением цитоскелета. Также повышение концентрации внутриклеточного кальция приводит к увеличению синтеза кальцийзависимых белков: аннексина А2 и S100А6. Аннексин А2 (липокортин) относится к семейству Са- и фосфолипидсвязывающих белков и угнетает активность фосфолипазы А2, что приводит к снижению синтеза простагландинов и лейкотриенов. Также он способен угнетать активность циклооксигеназы 1 и 2. S100А6 – фосфопроteinкиназа, влияющая на фосфорилирование/дефосфорилирование белковых молекул (посттранскрипционная модификация). Эти белки играют важную роль в клеточной пролиферации при реперфузии почек [11].

При реперфузии в результате перехода гипоксантина в ксантин генерируется перекись водорода и супероксидион. В присутствии ионов железа пероксид водорода обладает высокой реакционной способностью. Одновременно ишемическое повреждение стимулирует образование NO-синтетазы в клетках почечных канальцев. NO взаимодействует с пероксидом водорода в комплексе с Fe<sup>2+</sup> (супероксидион), образуется пероксинитрат, который непосредственно и приводит к клеточному повреждению через нитрозилирование цитоллярных белков, перекисное окисление липидов, повреждение ДНК и индукцию апоптоза.

Ишемия приводит к повреждению белков базальной мембраны цитоскелета: Na/K АТФ-азы и интегринов (рис. 2). В норме Na/K АТФ-азы соединяются с белками спектринной основы цитоскелета базолатерального домена через адаптерный белок анкирин. В культуре клеток канальца почек человека и животных ишемия приводит к обратимым накоплениям внутри жизнеспособных клеток Na/K АТФ-азы, анкирина и спектриннов. Гиперфосфорилирование анкирина с последующим отщеплением спектринного компонента от Na/K АТФ-азы при почечной ишемии сопровождается активацией таких протеаз, как кальпаин. Эта протеаза относится к семейству цистиеновых протеаз, способных фрагментировать множество внутриклеточных белков

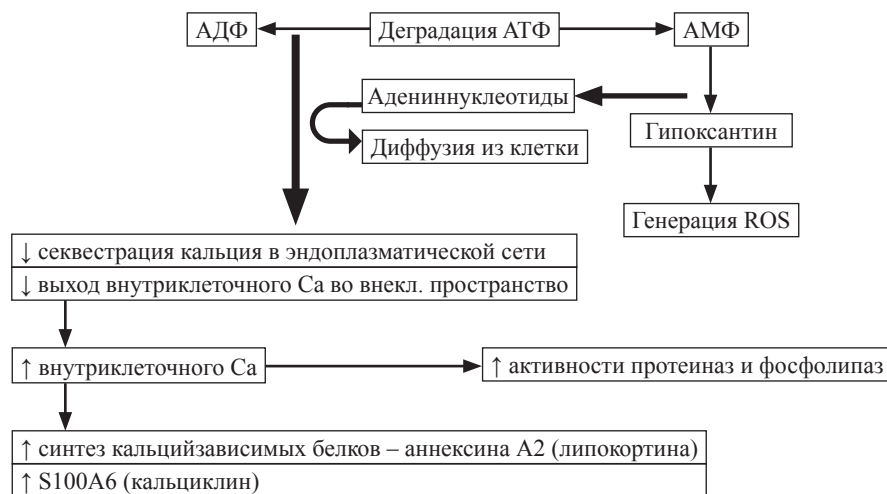


Рис. 1. Схематическое изображение последствий дегградации АТФ [11]

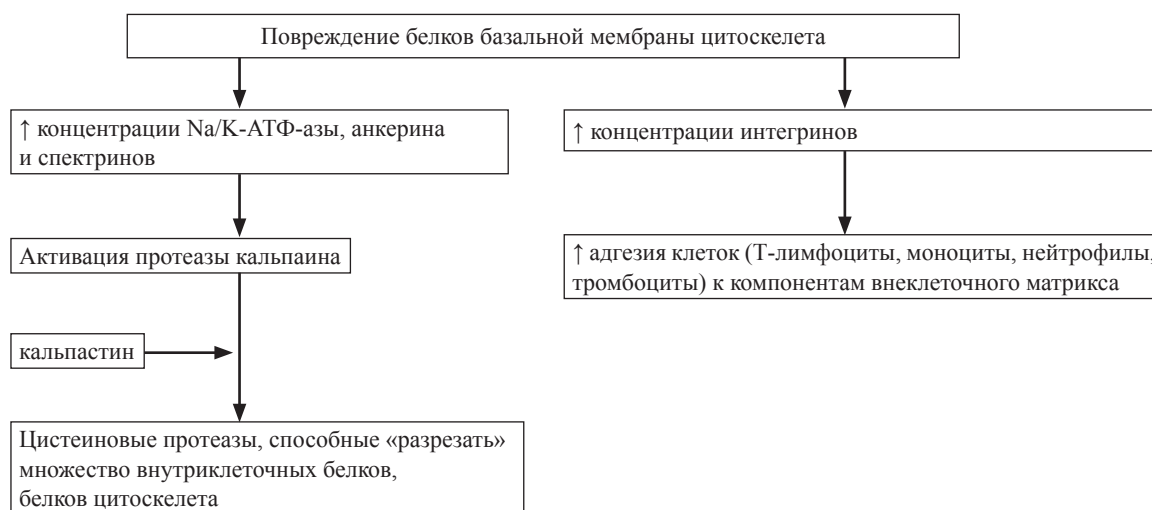


Рис. 2. Схематическое изображение последствий повреждения белков базальной мембраны цитоскелета [12]

и модифицировать их функции, а также разрушает белки цитоскелета и другие примембранные белки.

Интегрины (ITG) – молекулы клеточной адгезии, гетеродимерные белки, которые обеспечивают адгезию клеток к компонентам внеклеточного матрикса. Располагаются в базальной части эпителия канальцев. При ишемическом повреждении происходит перераспределение интегринов в апикальную область клетки, где они распознают в матриксных белках пептид RGD (аминокислотная последовательность ARG-GLY-ASP). Введение синтетического аналога RGD снижает ишемическое повреждение почек путем конкурентного связывания. Исследования показали, что активация ITG имеет решающее значение для поддержания целостности эпителия канальцев. Доишемическое внутривенное введение моноклональных антител против активированных b1-интегринов (HUTS21) сопровождается сохранением гистологической структуры и функционального состояния межклеточных взаимодействий и уменьшением воспалительной реакции [12].

Ишемическое повреждение приводит к увеличению эндотелиальной экспрессии различных молекул адгезии (табл. 2), которые усиливают плотность контакта лейкоцитов с эндотелиоцитами.

Использование моноклональных антител к различным молекулам адгезии приводило к снижению тяжести ишемического/реперфузионного повреждения в эксперименте [13].

Ишемия и последующая реперфузия индуцируют почечное повреждение и являются пусковым фактором синтеза провоспалительных цитокинов, таких как IL-1, IL-6, TNF-α [14]. Цитокины – небольшие молекулы, их вес составляет приблизительно 25 кДа. Цитокины являются регуляторными протеинами или гликопротеинами, высвобождающимися из различных клеток, главным образом из лейкоцитов. Они регулируют развитие и эффекторные функции иммунных клеток. Продукция и высвобождение цитокинов происходит наиболее активно в результате активации различными стимулами. В большинстве своем цитокины обладают аутокринными и/или



Таблица 2

## Молекулы клеточной адгезии, расположение и лиганды

Молекула адгезии	Экспрессирующие клетки	Лиганд
ICAM-1 (CD54)	Эндотелиальные клетки, лейкоциты	LFA-1 на лейкоцитах
ICAM-2 (CD102)	Эндотелиальные клетки, лейкоциты	LFA-1 на лейкоцитах
Е-селектины (CD62E)	Эндотелиальные клетки	Glycoprotein ESL-1 на нейтрофилах и миелоидных клетках
P-селектины (CD62P)	Эндотелиальные клетки, тромбоциты	P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) (CD162) на лейкоцитах

паракринными свойствами, но некоторые способны вызывать и эндокринные эффекты.

Известно, что направленная блокада цитокинов, включая IL-1, IL-6, IL-8, приводит к ослаблению почечного повреждения при ишемии и реперфузии. Подобным эффектом обладает и модуляция продукции IL-4, IL-10 [15]. Это свидетельствует о важной роли цитокинов в патогенезе ишемического и реперфузионного повреждения почечного трансплантата. При этом основными из них являются интерлейкины – 1, 6, 8, 10, 12, 17, 18, 23.

**Интерлейкин-1 (IL-1)** – медиатор воспаления и иммунитета, синтезируется многими клетками организма, в первую очередь активированными макрофагами, кератиноцитами, В-клетками и фибробластами. Интерлейкин-1 $\alpha$  и интерлейкин-1 $\beta$  синтезируются в виде предшественников и превращаются в зрелые белки после отщепления пропептида либо протеазой каспаза-1, либо так называемым интерлейкин-1-конвертирующим ферментом (ICE). Воспалительный ответ при ишемическом повреждении опосредован стимуляцией IL-1 $\alpha$  рецептора интерлейкина-1 (IL-1R). IL-1 $\alpha$  увеличивает экспрессию адгезивных факторов на эндотелиальных клетках, что способствует трансмиграции иммунокомпетентных клеток (нейтрофилов, лимфоцитов и других) в место повреждения. IL-1 $\alpha$  также стимулирует транскрипцию и секрецию IL-1 $\beta$  моноцитами, при этом последний дополнительно усиливает воспаление посредством увеличения рекрутизации макрофагов в очаг ишемического/реперфузионного повреждения [16].

**Интерлейкин-6 (IL-6)** – провоспалительный цитокин, который активно участвует в ишемическом/реперфузионном повреждении, секретируется активированными моноцитами или макрофагами, Т-клетками, эндотелиальными клетками и фибробластами в ответ на DAMP (damage – ассоциированные патогенные молекулы). Некоторые эффекты, вызываемые IL-6, аналогичны наблюдаемым при действии IL-1, TNF- $\alpha$ . Однако основное действие IL-6 связано с его участием в качестве кофактора при дифференцировке В-лимфоцитов, их созревании и преобразовании в плазматические клетки, секретирующие иммуноглобулины. Помимо этого IL-6 способствует экспрессии рецептора IL-2 на

активированных иммунocyтaх, а также индуцирует производство IL-2 Т-клетками. Этот цитокин стимулирует также пролиферацию Т-лимфоцитов и другие реакции гемопоэза.

Высокие показатели сывороточной концентрации IL-6 связаны с повышением риска смерти у пациентов с реперфузионным синдромом. Применение антител к IL-6 в эксперименте на мышцах привело к значительному уменьшению концентрации креатинина и мочевины плазмы крови. Это косвенно свидетельствует о снижении тяжести почечной дисфункции при ишемическом и реперфузионном повреждении. Кроме того, также значительно уменьшились нейтрофильная инфильтрация и содержание провоспалительных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) в почечной ткани. В этом эксперименте авторы наблюдали снижение тяжести повреждения канальцевого эпителия (гистологически подтвержденное) и заметное снижение концентрации молекул клеточной адгезии (ICAM-1, P-selectin) [17].

**Интерлейкин-10 (IL-10)**, также известный как синтезированный ингибиторный фактор (CSIF), относится ко 2-му классу цитокинов, продуцируется моноцитами, Т-регуляторными клетками. Этот цитокин оказывает плейотропные эффекты на иммунорегуляцию и воспаление: снижение продукции цитокинов Т-хелперами 1-го типа, снижение экспрессии молекул MHC, а также костимуляторных молекул макрофагами. Помимо этого, IL-10 повышает продолжительность жизни В-клеток, их пролиферацию и продукцию антител. IL-10 также может блокировать активацию NF- $\kappa$ B, ингибируя таким образом продукцию других цитокинов: INF- $\gamma$ , IL-2, IL-3, TNF- $\alpha$  и GM-GSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор). Интерлейкин-10 контролирует синтез циклооксигеназы-2 (COX-2). В экспериментальных моделях на мышцах было показано, что недостаток IL-10 приводит к повышению COX-активации, и как следствие, повышается эндотелиальная клеточная дисфункция [18]. Все эти эффекты IL-10 характеризуют его как противовоспалительный цитокин, который подавляет воспалительные и цитотоксические процессы в патогенезе ишемического/реперфузионного повреждения [19, 20].

Гетеродимерные цитокины **интерлейкин-12 и 23 (IL-12, IL-23)** секретируются главным образом активированным дендритными клетками, макрофагами в ответ на антигенную стимуляцию. IL-12 участвует в дифференциации Th0 (Т-хелперов нативных) в Th1 (Т-хелперы I типа). IL-12 также известен как Т-клеточный стимуляционный фактор, который может стимулировать рост и функциональную активность Т-клеток. IL-12 стимулирует продукцию INF- $\gamma$  (интерферон гамма) и TNF- $\alpha$  (фактор некроза опухолей альфа) NKT-клетками и Т-клетками I типа. IL-23 состоит из 2 субъединиц, а именно p40, которая является также компонентом цитокина IL-12 и p19, которая рассматривается как субъединица IL-23 $\alpha$ . IL-23 играет важную роль в воспалительном ответе при ишемическом/реперфузионном повреждении: участвует в регуляции матриксной металлопротеиназы 9 (MMP9), увеличивает ангиогенез и уменьшает CD8+ Т-клеточную инфильтрацию [21].

Совместно с IL-6 и TGF- $\beta$ 1 (трансформирующий ростовой фактор  $\beta$ 1) IL-23 стимулирует дифференциацию Th0 в Th-17 и последующую продукцию ими **интерлейкина-17 (IL-17)**. IL-17 стимулирует Т-клеточный ответ, а также усиливает продукцию других провоспалительных молекул: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , NOS-2 (синтетаза оксида азота) и хемокинов в результате ишемического/реперфузионного повреждения [22]. IL-23 и IL-17 – важные медиаторы для рекрутизации и миграции нейтрофилов посредством индукции гранулопоза и продукции G-CSF (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), IL-6, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и нейтрофильных хемотрактивных протеинов, включая CXCL 1, 2 и 5. В некоторых исследованиях IL-12/INF- $\gamma$  и IL-23/IL-17 сигнальным путям отводится важная роль в нативном иммунном ответе при ишемическом/реперфузионном повреждении. Продукция IL23/IL17 стимулирует инфильтрацию паренхимы почечного трансплантата полиморфно-ядерными нейтрофилами и другими иммунными клетками [23].

**Интерлейкин-18 (IL-18)** – относительно недавно открытый провоспалительный цитокин, принадлежащий к семейству интерлейкина-1, известный как интерферон- $\gamma$ -индуцирующий фактор, который индуцирует интерферон- $\gamma$  продукцию Т-клетками и NK-клетками. IL-18 синтезируется как биологический неактивный предшественник, который под воздействием интерлейкин-1-конвертирующего фермента (внутриклеточной цистеиновой протеазы (ICE) или каспазы-1) превращается в зрелый белок, состоящий из 157 аминокислот. После секреции из клетки IL-18 связывается либо с IL-18-связывающим белком и инактивируется, либо с IL-18-рецепторным комплексом, состоящим из рецептора IL-18 (IL-1R5), и IL-18-дополняющим белком (IL-1R7). После формирования

лиганд-рецепторного комплекса к нему присоединяется MyD88 и киназа IRAK1, запускающая сигнальный путь, активирующая провоспалительный фактор транскрипции NF-kB. IL-18 индуцирует продукцию провоспалительных медиаторов: TNF, IL-1, хемокины (CXCL, CC), Fas-ligands. IL-18 играет активную роль в ишемическом/реперфузионном повреждении и отторжении трансплантата (а также инфекции, аутоиммунных состояниях и малигнизации) [24].

**Интерлейкин-12 (IL-12)** относится к семейству интерлейкинов и продуцируется дендритными клетками, макрофагами и человеческими В-лимфоцитами в ответ на антигенную стимуляцию. IL-12 вовлекается в дифференциацию наивных Th0 в Th1. IL-12 стимулирует продукцию INF- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  Т-клетками и NK-клетками, а также сокращает IL-4-опосредованную супрессию продукции INF- $\gamma$ . Т-клетки, которые продуцируют IL-12, имеют корецептор (CD30), стимуляция которого связана с активностью продукции IL-12. IL-12 играет важную роль в активации NK-клеток (путем увеличения их цитотоксической активности) и CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов. Также известна связь IL-2 и IL-12, так как IL-2 стимулирует экспрессию двух IL-12 рецепторов: IL-12R- $\beta$ 1 и IL-12R- $\beta$ 2. IL-12R- $\beta$ 2 играет ключевую роль в функции IL-12. После связывания IL-12 с рецептором происходит конформация последнего и каскадное взаимодействие с внутриклеточными протеинами и дальнейшая активация NF-kB [25].

IL-12 и IL-18 являются первоначальными источниками продукции INF- $\gamma$  при ишемическом/реперфузионном повреждении почечного трансплантата. У мышей с искусственным дефицитом IL-18 ICE продукция INF- $\gamma$  и цитотоксических Т-клеток значительно была уменьшена, несмотря на достаточное количество IL-12 [24].

Влияние IL-12, IL-18, INF- $\gamma$  на иммунные клетки и клетки канальцев показано на рис. 3.

Выполненные исследования показывают, что увеличение почечного содержания mRNA IL-18 связано с ICE-активацией в течение первых суток после реперфузии, в то время как содержание INF- $\gamma$  и IL-12 mRNA увеличиваются после 6 суток после реперфузии. Нейтрализация IL-12 и IL-18 приводит к сокращению INF- $\gamma$  продукции. Экспериментальное использование ингибитора внутриклеточной цистеиновой протеазы (ICE) приводит к значительному сокращению морфологического повреждения почек. У мышей с искусственным дефицитом IL-18 после реперфузии отмечены низкие показатели INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  по сравнению с «дикими» мышами. Исходя из этого, можно сделать вывод, что IL-18 играет важную роль в ишемическом/реперфузионном повреждении [24].

**Хемокины** – подгруппа небольших цитокинов, состоящих из 90–130 аминокислотных остатков. Их

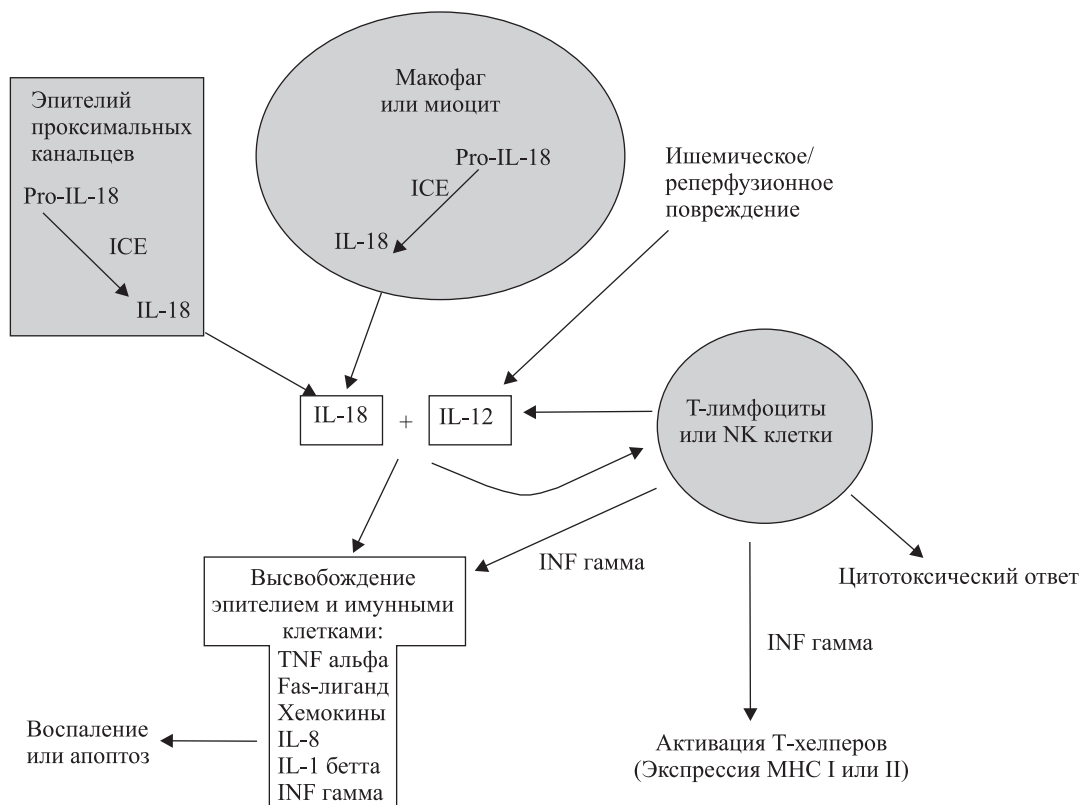


Рис. 3. Диаграмма, описывающая клеточную продукцию IL-18 и последующие иммунные эффекты. ICE – внутриклеточная цистеиновая протеаза (адаптировано из [24])

основная функция – хемотаксис и активация лейкоцитов. В постишемических тканях хемокины образуются благодаря воздействию активных радикалов кислорода, цитокинов, активации комплемента и TLR-опосредованным сигнальным путям и NF- $\kappa$ B-системам. Провоспалительные цитокины, а именно TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , стимулируют хемокиновую продукцию в постишемической ткани. Активация комплемента также стимулирует хемокиновую продукцию. Исследования показывают, что специфический антагонист рецептора C5a уменьшает выброс CXС-хемокинов и тем самым уменьшает нейтрофильную инфильтрацию на 50% по сравнению с контрольной группой в экспериментальной модели ишемии/реперфузии [26, 27].

**Интерлейкин-8 (IL-8/CXCL8, фактор хемотаксиса нейтрофилов)** относится к CXС-подсемейству хемокинов, является ERL-положительным хемокином (хемокином, содержащим между цистеиновыми фрагментами аминокислотную последовательность: глутаминовая кислота – лейцин – аргинин), играет важную роль в нейтрофильной рекрутизации в постишемическую ткань почки, опосредуя тканевое повреждение через цитокины, свободные радикалы и протеазы. Концентрация IL-8 увеличивается после реперфузии, и его экспрессия коррелирует с продолжительностью ишемии почечного трансплантата [28]. Концентрация кератиноцит-производного хемокина (КС, мышинный аналог

человеческого IL-8) повышается в ишемических/реперфузионных моделях у мышей. Нейтрализация КС и макрофагального воспалительного протеина-2 (MIP-2) приводит к ослаблению ишемического/реперфузионного повреждения.

Ингибирование CXCR2 (рецептора CXCL8), одного из специфических рецепторов для ELR-содержащих CXС-хемокинов, уменьшает почечное повреждение на моделях мышей, подвергшихся ишемическому/реперфузионному повреждению [29].

CXCR3-рецептор преимущественно экспрессируется на активированных Th1-клетках и связывает три не-ELR-содержащих CXС-хемокина: 1) монокин, 2) INF- $\gamma$ -индуцибельный протеин (IP)-10/CXCL10) и 3) интерферон-индуцибельный Т-клеточный альфа-хемоаттрактант (IT $\alpha$ C/CXCL11). Экспрессия CXCR3 увеличивается в постишемической почечной ткани, что продемонстрировано на «мышинных» моделях. У мышей с искусственным дефицитом CXCR3 наблюдалась значительно меньшая выраженность ишемического/реперфузионного повреждения [30].

Интересны исследования по экспрессии IL-8 и хемокинового рецептора при реперфузии почечного аллотрансплантата от живых и трупных доноров. Экспрессия хемокинов, направленных на рекрутизацию нейтрофилов и макрофагов, увеличивается после реперфузии почечных трансплантатов, как от живых, так и трупных доноров. Концентрация IL-8

коррелирует с продолжительностью ишемии трансплантата. Тяжелая ишемия индуцирует значительное увеличение экспрессии IL-8 после реперфузии. Начальное повреждение тканей может быть ослаблено посредством применения антагонистов хемокинов, которое приводит к снижению рекрутизации нейтрофилов и макрофагов в ткани почечного трансплантата [28, 31, 32].

**Моноцитарный хемоаттрактивный протеин-1 (MCP-1)/CCL2, малый**, один из CC-хемокинов, хемоаттрактант для моноцитов, Т-клеток и NK-клеток. CCL2 главным образом секретируется моноцитами, макрофагами и дендритными клетками. Рецепторами для CCL2 являются CCR2 и CCR4. MCP-1/CCL2 причастен к моноцитарной инфильтрации, показанной на ишемических/реперфузионных моделях у мышей. В эксперименте у мышей, дефицитных по CCR2, наблюдалось значительное уменьшение канальцевого повреждения и уменьшение макрофагальной инфильтрации во время ишемического/реперфузионного повреждения [33–35].

**RANTES (регулятор активации, нормальной Т-клеточной экспрессии и секреции) – CCL5-хемокин** – хемоаттрактант для моноцитов, эозинофилов и Т-клеток, играет важную роль в рекрутизации лейкоцитов в место воспаления. С помощью специфических цитокинов (IL-2 и INF- $\gamma$ ) CCL5 индуцирует пролиферацию и активацию определенных NK-клеток – CHAK (CC – хемокин-активированные киллеры) клеток. CCL5 взаимодействует с CCR3, CCR5 и CCR1 [35–39].

**Фракталин/CX3CL1** – член CX3C-хемокинового субсемейства (у мышей он называется неуротактин). Экспрессируется на NK-клетках, моноцитах и Т-клетках, играет роль лейкоцитарного хемоаттрактанта и адгезивной молекулы. CX3CL1 изначально экспрессируется клетками почек и после ишемического/реперфузионного повреждения перераспределяется в мозговой слой паренхимы почечного трансплантата. Ингибирование CX3CR1 (рецептора к CX3CL1) уменьшает интерстициальный фиброз в постишемическом трансплантате. Предполагается, что CX3CR1-сигналы регулируют макрофагальную инфильтрацию и фиброз при ишемических/реперфузионных повреждениях [40–43].

Хемокиновая экспрессия имеет важное значение не только при ишемическом/реперфузионном повреждении, но и в репаративных процессах в почках. В экспериментальных исследованиях I. Stroh и соавт. удалось показать, что в течение всего периода ишемического/реперфузионного повреждения отмечается разная количественная и качественная экспрессия хемокинов. Содержание хемокинов CXCL1 и CXCL10 увеличивается после 3 часов реперфузии, далее вплоть до 7 суток их концентрация

остаётся неизменной. Концентрация хемокинов CCL2, CCL6, CCL8 и CXCL2, напротив, значительно возрастает к 7-м суткам после реперфузии. Также авторы обнаружили увеличение концентрации хемокиновых рецепторов CCR1 и CX3CR1 к 7-м суткам после ишемического/реперфузионного повреждения. Все эти данные свидетельствуют, что хемокины – важные медиаторы, участвующие не только в ишемическом/реперфузионном повреждении, но и в репаративных процессах [34].

Дополнительные исследования хемокинов/хемокиновых рецепторов показали, что CCR2-опосредованная макрофагальная инфильтрация сильно влияет на тяжесть канальцевого некроза после ишемического/реперфузионного повреждения. Интерферон-гамма-индуцибельный протеин-10 (IP-10, CXCL-10), продуцируемый макрофагами, участвует в регенерации эпителиальных клеток канальцев, а CX3CR1-опосредованная макрофагами и тромбоцитами инфильтрация и агрегация играет роль в дальнейшем фиброзе почечной ткани [44].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, очевидно, что ишемическое и реперфузионное повреждение почечного трансплантата носит комплексный характер, а патогенез его крайне сложен. В настоящее время отсутствует единый подход к коррекции ишемического и реперфузионного повреждения почечного трансплантата. Имеются работы, в которых установлено, что различные методы экстракорпоральной терапии могут снизить тяжесть травмы почечного трансплантата [1, 45]. Однако эти методы достаточно не селективны и механизм их действия полностью не изучен, в результате чего клиническое применение не всегда сопровождается ожидаемым эффектом. В то же время существуют в большинстве своем экспериментальные работы применения различных биологических агентов для снижения тяжести ишемического повреждения [27, 46–49]. Однако эти препараты пока еще не являются рутинным методом коррекции ишемического и реперфузионного повреждения трансплантата. Дальнейшее изучение патогенеза этого процесса способствует разработке эффективных методов коррекции неспецифических нарушений функции почечного трансплантата в раннем послеоперационном периоде.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Каабак ММ.* Послеоперационное лечение реперфузионного повреждения трансплантированной почки: новый взгляд на патогенез реперфузионной травмы: дис. М., 2003. *Kaabak MM.* Post-operative treatment of reperfusion damage of the transplanted kidney: a new



- approach to the pathogenesis reperfusion injury: dis. M., 2003. (in Rus).
2. Patschan D, Patschan S, Muller GA. Inflammation and microvasculopathy in Renal Ischemia Reperfusion Injury. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Transplantation*. 2012; Article ID 764154: 7.
  3. Boros P, Bromberg JS. New Cellular and Molecular Immune Pathways in Ischemia/Reperfusion Injury. *American Journal of Transplantation*. 2006; 6: 652–658.
  4. Bergler T1, Hoffmann U, Bergler E. Toll-like receptor 4 in experimental kidney transplantation: early mediator of endogenous danger signals. *Nephron Exp Nephrol*. 2012; 121 (3–4): e59–70.
  5. Kristin Moretha, Helena Freya, Mario Huboa. Biglycan-triggered TLR-2- and TLR-4-signaling exacerbates the pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *Matrix Biology*. 28 January 2014.
  6. Kristin Moreth, Rebekka Brodbeck, Andrea Babelova, Liliana Schaefer. The proteoglycan biglycan regulates expression of the B cell chemoattractant CXCL13 and aggravates murine lupus nephritis. *J. Clin. Invest*. 2010; 120 (12): 4251–4272.
  7. Babelova A et al. Biglycan, a danger signal that activates the NLRP3 inflammasome via toll-like and P2X receptors. *J Biol Chem*. 2009; 284 (36): 24035–24048.
  8. Jinyang Zeng-Brouwers, Liliana Schaefer. Role of extracellular matrix components in renal pathophysiology. *J. Matrix Biology*. 2013. Available from: <http://www.pzf.de/allg/research/schaefer.php>
  9. Popovic ZVI, Wang S, Papriantafyllou M, Kaya Z. The proteoglycan biglycan enhances antigen-specific T-cell activation potentially via MyD88 and TRIF pathways and triggers autoimmune perimyocarditis. *J. Immunol*. 2011 Dec 15; 187 (12): 6217–6226.
  10. Kolářová H, Ambrůzová B, Svihálková Šindlerová L, Klinke A, Kubala L. Modulation of Endothelial Glycocalyx Structure under Inflammatory Conditions. *Mediators Inflamm*. 2014; 2014: 694312.
  11. Bharadwaj A, Bydoun M, Holloway R, Waisman D. Annexin A2 heterotetramer: structure and function. *Int. J. Mol. Sci*. 2013 Mar 19; 14 (3): 6259–6305.
  12. Antonios H. Tzamaloukas, Deepak Malhotra, Bradley H. Rosen. Principles of Management of Severe Hyponatremia. *J. Am. Heart Assoc*. Feb 2013; 2 (1): e005199.
  13. Lawson C, Wolf S. ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacol Rep*. 2009 Jan-Feb; 61 (1): 22–32.
  14. Hye Ryoun Jang, Hamid Rabb. The innate immune response in ischemic acute kidney injury. *Clin. Immunol*. 2009 January; 130 (1): 41–50.
  15. de Vries DK1, Lindeman JH, Tsikas D, de Heer E, Roos A. Early renal ischemia-reperfusion injury in humans is dominated by IL-6 release from the allograft. *Am. J. Transplant*. 2009 Jul; 9 (7): 1574–1584.
  16. Rider P, Carmi Y. IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  recruit different myeloid cells and promote different stages of sterile inflammation. *J. Immunol*. 2011 Nov 1; 187 (9): 4835–4843.
  17. Nimesh SA. Patel. Endogenous IL-6 Enhances the Renal Injury, Dysfunction and Inflammation Caused by Ischemia/Reperfusion. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2009; 312 (3): 1170–1178.
  18. Sikka Gautam, Miller Karen, Berkowitz Dan, Barouch Lili. Interleukin 10 knockout frail mice develop cardiac and vascular dysfunction with increased age. *J. Experimental Gerontology*. 2013 Feb; 48 (2): 128–135.
  19. Saraiva M, O'Garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nat. Rev. Immunol*. March 2010; 10 (3): 170–181.
  20. Hammer M, Mages J. Control of dual-specificity phosphatase-1 expression in activated macrophages by IL-10. *Eur. J. Immunol*. March 2010; 35 (10): 2991–3001.
  21. Sik Lee, Sarah Huen, Hitoshi Nishio, Saori Nishio. Distinct Macrophage Phenotypes Contribute to Kidney Injury and Repair. *J. Am. Soc. Nephrol*. Feb 2011; 22 (2): 317–326.
  22. Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annu. Rev. Immunol*. 2009; 27: 485–517.
  23. Li L, Liping Huang, Amy L. Vergis, Hong Ye. IL-17 produced by neutrophils regulates IFN- $\gamma$ -mediated neutrophil migration in mouse kidney ischemia-reperfusion injury. *The Journal of Clinical Investigation*. January 2010; 120 (1).
  24. Jeffrey A. Leslie, M.D., Kirstan K. Meldrum. The Role of Interleukin-18 in Renal Injury. *Journal of Surgical Research*. 2008; 145: 170–175.
  25. Therwa Hamza, John B. Barnett, Bingyun Li. Interleukin 12 a Key Immunoregulatory Cytokine in Infection Applications. *Int. J. Mol. Sci*. 2010; 11 (3): 789–806.
  26. Qi Peng, Ke Li, Lesley A. Smyth, Guolan Xing. C3a and C5a Promote Renal Ischemia-Reperfusion Injury. *J. Am. Soc. Nephrol*. Sep 2012; 23 (9): 1474–1485.
  27. Kaabak MI, Babenko N, Kuznetsov O. Eculizumab reverses the potentially fatal effects of kidney graft reperfusion injury. *Pediatr Transplant*. 2014 Mar; 18 (2): E44–47.
  28. Lo DJ, Weaver TA, Kleiner DE, Mannon RB. Chemokines and their receptors in human renal allotransplantation. *Transplantation*. 2011 Jan 15; 91 (1): 70–77.
  29. Kolattukudy PE, Niu J. Inflammation, endoplasmic reticulum stress, autophagy, and the monocyte chemoattractant protein-1/CCR2 pathway. *Circ. Res*. 2012 Jan 6; 110 (1): 174–189.
  30. Fiorina P, Ansari MJ, Jurewicz M. Role of CXC chemokine receptor 3 pathway in renal ischemic injury. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2006; 17: 716–723.
  31. Bertini R, Barcelos LS. Receptor binding mode and pharmacological characterization of a potent and selective dual CXCR1/CXCR2 non-competitive allosteric inhibitor. *Br. J. Pharmacol*. Jan 2012; 165 (2): 436–454.
  32. Andrew Siedlecki, William Irish, Daniel C. Brennan Delayed Graft Function in the Kidney Transplant. *Am. J. Transplant*. Nov 2011; 11 (11): 2279–2296.
  33. Furuichi K, Wada T, Iwata Y. CCR2 signaling contributes to ischemia-reperfusion injury in kidney. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2003; 14: 2503–2515.
  34. Ingrid Stroo, Geurt Stokman, Gwen JD Teske. Chemokine expression in renal ischemia/reperfusion injury is most profound during the reparative phase. *Int. Immunol*. Jun 2010; 22 (6): 433–442.
  35. Victor E Laubach, Brent A French, Mark D Okusa. Targeting of Adenosine Receptors in Ischemia-Reperfusion

- Injury. *Expert Opin Ther. Targets*. Jan 2011; 15 (1): 103–118.
36. Sanchez A, Tripathy D. RANTES release contributes to the protective action of PACAP38 against sodium nitroprusside in cortical neurons. *Neuropeptides*. 2009 Aug; 43 (4): 315–320.
37. Rogers NM, Stephenson MD. Amelioration of renal ischemia–reperfusion injury by liposomal delivery of curcumin to renal tubular epithelial and antigen-presenting cells. *Br. J. Pharmacol*. May 2012; 166 (1): 194–209.
38. Xu Wang, Caroline Watson, Joshua S. Sharp. Oligomeric Structure of the Chemokine CCL5/RANTES from NMR, MS, and SAXS Data. *Structure*. Aug 10, 2011; 19 (8): 1138–1148.
39. Matheus Correa-Costa, Hátylas Azevedo. Transcriptome Analysis of Renal Ischemia/Reperfusion Injury and Its Modulation by Ischemic Pre-Conditioning or Hemin Treatment. *PLoS One*. 2012; 7 (11): e49569.
40. Furuichi K, Gao JL, Murphy PM. Chemokine receptor CX3CR1 regulates renal interstitial fibrosis after ischemia-reperfusion injury. *Am. J. Pathol*. 2006; 169: 372–387.
41. Li Li, Liping Huang. The chemokine receptors CCR2 and CX3CR1 mediate monocyte/macrophage trafficking in kidney ischemia–reperfusion injury. *Kidney Int*. Dec 2008; 74 (12): 1526–1537.
42. Li Li MD, Macrophages PhD. Dendritic cells and Kidney Ischemia-Reperfusion Injury. *Semin Nephrol*. May 2010; 30 (3): 268–277.
43. Grosse GM, Tryc AB. The temporal dynamics of plasma fractalkine levels in ischemic stroke: association with clinical severity and outcome. *J. Neuroinflammation*. 2014 Apr 10; 11(1):74.
44. Furuichi K, Kaneko S, Wada T. Chemokine/chemokine receptor-mediated inflammation regulates pathologic changes from acute kidney injury to chronic kidney disease. *Clin. Exp. Nephrol*. 2009 Feb; 13 (1): 9–14.
45. Vatazin AV, Siniutin AA, Zul'karnaev AB. Plasmapheresis in controlling of the severity of ischemia-reperfusion damage of renal transplant. *J. Clin. Nephrology*. 2013: 4.
46. Hardinger KL, Brennan DC. Novel immunosuppressive agents in kidney transplantation. *World J. Transplant*. 2013 Dec 24; 3 (4): 68–77.
47. Zhang LI, Zhu Z, Liu J. Protective effect of N-acetylcysteine (NAC) on renal ischemia/reperfusion injury through Nrf2 signaling pathway. *J. Recept Signal Transduct Res*. 2014 Apr 15.
48. Wang XI, Tao T, Ding R. Kidney Protection against Ischemia/Reperfusion Injury by Myofibrillogenesis Regulator-1. *Am. J. Nephrol*. 2014 Apr 2; 39 (4): 279–287.
49. Ruan Y, Wang L, Zhao Y. Carbon monoxide potently prevents ischemia-induced high-mobility group box 1 translocation and release and protects against lethal renal ischemia-reperfusion injury. *Kidney Int*. 2014 Apr 2. doi: 10.1038/ki.2014.80.

Статья поступила в редакцию 05.02.2015 г.