

АУТОФАГИЯ, АПОПТОЗ, НЕКРОПТОЗ, ПИРОПТОЗ И НЕТОЗ В ПАТОГЕНЕЗЕ ИММУНОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Саидов М.З.

ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия

Резюме. При иммуновоспалительных ревматических заболеваниях организованными формами клеточного инфильтрата являются эктопические фолликулоподобные лимфоидные структуры и ГЗТ-гранулемы, неорганизованными формами — диффузный клеточный воспалительный инфильтрат. Неотъемлемым компонентом патогенетической динамики этих видов клеточного инфильтрата являются программируемые варианты гибели клеток, из которых наиболее значимыми являются аутофагия, апоптоз, некроптоз, пироптоз и нетоз. Существует тесная взаимосвязь между указанными формами клеточной гибели. Эта взаимосвязь сформировалась в процессе биологической эволюции, отличается выраженным консерватизмом и подчиняется общебиологическим закономерностям молекулярно-клеточных процессов в клетке. Высвобождающиеся в процессе гибели клеток «сигналы опасности» (DAMPs) индуцируют состояние аутореактивности, обусловленной в том числе модуляцией процессов гибели клеток с помощью PRR-рецепторов клеток врожденной иммунной системы. На основании анализа процесса эндоцитоза, сигнальных путей, адапторных молекул, транскрипционных факторов, свойственных каждой из указанных форм гибели клеток, представлена патогенетическая значимость изменений мембранных структур и молекулярных путей реализации программируемой клеточной гибели при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях. В этом отношении фундаментальными являются мембран-ассоциированные клеточные процессы, формирование различных видов внутриклеточных инфламасом, процессы кросс-презентации МНС-рестриктированных продуктов дезорганизации рыхлой волокнистой соединительной ткани и индукция аутореактивности врожденной и адаптивной иммунных систем. Причинно-следственные взаимоотношения молекулярных путей реализации указанных форм клеточной гибели позволяют идентифицировать целевые молекулярные мишени с целью модуляции продуктивного воспаления.

Ключевые слова: воспаление, ревматические болезни, аутофагия, апоптоз, некроптоз, пироптоз, нетоз, аутореактивность, МНС I класса, МНС II класса

Адрес для переписки:

Саидов Марат Зиявдинович
ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный
медицинский университет»
367000, Россия, Республика Дагестан,
г. Махачкала, пл. Ленина, 1.
Тел.: 8 (988) 300-90-45.
E-mail: marat.saidov.55@mail.ru

Address for correspondence:

Saidov Marat Z.
Dagestan State Medical University
367000, Russian Federation, Republic of Dagestan,
Makhachkala, Lenin Square, 1.
Phone: 7 (988) 300-90-45.
E-mail: marat.saidov.55@mail.ru

Образец цитирования:

М.З. Саидов «Аутофагия, апоптоз, некроптоз, пироптоз и нетоз в патогенезе иммуновоспалительных ревматических заболеваний» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 4. С. 659-704.
doi: 10.15789/1563-0625-AAN-2482
© Саидов М.З., 2022

For citation:

M.Z. Saidov "Autophagy, apoptosis, necroptosis, pyroptosis and netosis in pathogenesis of immune-inflammatory rheumatic diseases", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2022, Vol. 24, no. 4, pp. 659-704.
doi: 10.15789/1563-0625-AAN-2482
DOI: 10.15789/1563-0625-AAN-2482

AUTOPHAGY, APOPTOSIS, NECROPTOSIS, PYROPTOSIS AND NETOSIS IN PATHOGENESIS OF IMMUNE-INFLAMMATORY RHEUMATIC DISEASES

Saidov M.Z.

Dagestan State Medical University, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russian Federation

Abstract. There are organized forms of cellular infiltrate observed in immune-inflammatory rheumatic diseases, i.e., ectopic follicle-like lymphoid structures and delayed-type response granulomas, whereas diffuse cellular inflammatory infiltrates represent non-organized forms. In these types of cellular infiltration, an integral pathogenetic link includes programmable cell death variants, with autophagy, apoptosis, necroptosis, pyroptosis and netosis being the most significant. There is a close relationship between these forms of cell death. This relationship occurred in the process of biological evolution, being characterized by pronounced conservatism, and it follows general biological laws of molecular cellular processes. The “danger signals” (DAMPs) released during cell death induce a state of autoreactivity caused, e.g., by modulation of cell death processes using cellular PRR receptors of the innate immune system. When analyzing the processes of endocytosis, signaling pathways, adaptive molecules, transcription factors involved into these modes of cell death, we discuss pathogenetic role of changing membrane structures and molecular pathways of programmed cell death in immune-inflammatory rheumatic diseases. In this regard, there are fundamental membrane-associated cellular processes, genesis of various types of intracellular inflammasomes, cross-presentation of MHC-restricted products of disorganized loose fibrous connective tissue, and induction of innate and adaptive immune autoreactivity. Causal relationships of the molecular pathways for initiation of these forms of cell death, thus enabling identification of the molecular targets, in order to modulate productive inflammation.

Keywords: inflammation, rheumatic diseases, autophagy, apoptosis, necroptosis, pyroptosis, netosis, autoaggression, MHC I class, MHC II class

Введение

Иммуновоспалительные ревматические заболевания (ИВРЗ) представляют собой уникальную группу болезней человека, патогенетической основой которых является системный иммуновоспалительный процесс в рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани. Важным свойством ИВРЗ является гиперреактивность иммунной системы, моногенная и/или полигенная генетическая предрасположенность, многофакторность происхождения, при этом на модуляцию фенотипа заболевания сильное влияние оказывают факторы окружающей среды [94].

При интерпретации патогенеза ИВРЗ доминирующими являются представления о нарушениях регуляции врожденной иммунной системы, обуславливающих индукцию системных аутовоспалительных процессов и о нарушениях функций адаптивной иммунной системы, ассоциированных с появлением системных аутоиммунных заболеваний [2, 16].

Триггерами активации врожденной и адаптивной систем иммунитета при ИВРЗ являются молекулярные паттерны, ассоциированные с дезорганизацией рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани — DAMP,

называемые также «сигналами опасности» или аларминами. При системных аутовоспалительных процессах DAMP взаимодействуют с мембранными и цитоплазматическими рецепторами распознавания образов — PRR-рецепторами, экспрессирующихся на антиген-презентирующих клетках (АПК) — фолликулярных и плазматцитоидных дендритных клетках (фДК и пДК) с последующей активацией сигнальных путей, приводящих к гиперпродукции, в частности IL-1 β . IL-1 β является одной из основных эффекторных молекул, стимулирующих аутовоспалительные процессы. Этот цитокин также действует и на эффекторные клетки адаптивной иммунной системы, способствуя экспансии аутореактивных Th1- и Th17-лимфоцитов и ингибируя активность регуляторных Т-лимфоцитов (Treg). IL-1 β в этой ситуации выступает в качестве важного фактора патогенетической взаимосвязи между адаптивным и врожденным иммунитетом. Аналогичные функции выполняют и интерфероновые цитокины. Также врожденная иммунная система играет определенную роль в активации адаптивной иммунной системы с помощью АПК, активация которых обуславливает последующий реактивный ответ В- и Т-клеток. Таким образом, кратко-

срочная или длительная активация врожденного иммунитета может привести к аутоиммунным заболеваниям [112].

Ключевой характеристикой системных аутоиммунных процессов является обнаруживаемая аутореактивность В- и Т-клеток, проявляющаяся в виде продукции цитопатогенных аутоантител и аутореактивных Т-клеток широкой специфичности, тканевой и органной тропности. Во всех этих случаях DAMP выступают в роли ауто-АГ.

Хотя существуют обоснованные различия между аутовоспалительными и аутоиммунными заболеваниями, тем не менее они имеют много общего. В обеих группах заболеваний лежащие в их основе иммунопатологические процессы направлены против АГ собственного организма. Эти заболевания носят системный характер, при этом поражается опорно-двигательный аппарат и паренхиматозные органы. Этиологические и патогенетические характеристики позволяют отнести их к группе мультифакториальных заболеваний [121].

В этом контексте модель континуума ИВРЗ подразумевает тесную взаимосвязь хронического продуктивного воспаления (ХПВ), гиперреактивности иммунной системы, причинно-следственных взаимосвязей механизмов врожденного и адаптивного иммунитета и полиорганности поражения. Важнейшей и универсальной характеристикой ХПВ при аутовоспалительных и аутоиммунных заболеваниях, является формирование клеточного воспалительного инфильтрата (КВИ).

В предыдущем обзоре [4] были представлены материалы, свидетельствующие о том, что плацдармом ИВРЗ является рыхлая волокнистая неоформленная соединительная ткань. Уникальность ее реактивности состоит в том, что воздействие различных флогенов сопровождается однотипной реакцией этой ткани, в каких бы органах она не располагалась. Морфологическим субстратом ХПВ при ИВРЗ является КВИ. В процессе хронического воспаления КВИ приобретает разные морфологически идентифицируемые формы. Организованными формами КВИ при ИВРЗ являются эктопические фолликулоподобные лимфоидные структуры (ELS) и ГЗТ-гранулемы, неорганизованными формами — диффузный клеточный воспалительный инфильтрат. Фолликулоподобные структуры и ГЗТ-гранулемы имеют морфо-функциональное сходство с периферическими органами иммунной системы — лимфатическими узлами, пейеровыми бляшками, селезенкой, что создает возможность индукции иммунного ответа на ауто-АГ в очаге воспаления (*locus morbi*). КВИ является динамичной структурой, отражающей

этапность, рецидивирующее течение и исход ИВРЗ. Динамика состава КВИ является отражением конкретного этапа иммуновоспалительного процесса [4].

Неотъемлемым компонентом патофизиологической динамики ELS, ГЗТ-гранулем и диффузного клеточного воспалительного инфильтрата при ИВРЗ является та или иная форма гибели клеток. Причем гибель клеток при ХПВ не является простым исчезновением последних, но является важным фактором поддержания и прогрессирования воспаления. Содержание этого уникального феномена состоит в том, что потеря целостности клеточной мембраны и высвобождение внутриклеточного содержимого обуславливают организацию цитопатогенного аутовоспаления и аутоиммунного ответа на DAMP, имеющих все характеристики ауто-АГ.

В целом биологической закономерностью является то, что одним из важнейших факторов поддержания гомеостаза организма является баланс между выживанием клеток и их гибелью. При этом мобилизуются определенные, эволюционно сформированные механизмы утилизации клеточного детрита (речь идет, прежде всего, о фагоцитозе этого материала), в большинстве случаев связанные с процессами воспаления и иммуногенеза. Важно отметить, что, с одной стороны, различные формы гибели клеток, сопровождающиеся выделением DAMP, оказывают особое влияние на иммунную реактивность (аутореактивность), а с другой стороны, модуляцию процессов гибели клеток с помощью PRR-рецепторов клеток врожденной иммунной системы можно считать важной функциональной особенностью последней [25].

Формы гибели клеток крайне разнообразны. Их классификация не окончательна и подвергается регулярному пересмотру. В соответствии с рекомендациями Комитета по номенклатуре клеточной смерти (NCDD) в основу классификации клеточной гибели положены, прежде всего, генетически запрограммированные механизмы для целенаправленного устранения избыточных, необратимо поврежденных и/или потенциально опасных клеток. Эти механизмы обуславливают регулируемую гибель клеток (РГК). К случайным формам гибели клеток можно отнести мгновенную гибель клеток, подвергшихся серьезным воздействиям факторов физической природы (например, высокое давление, температура или осмотическое давление), химической природы (например экстремальные колебания pH) или механические воздействия. В свою очередь РГК задействовано в двух диаметрально противоположных направлениях. Первое — когда РГК может возникнуть в отсутствие каких-либо экзо-

генных воздействий окружающей микросреды и в этих случаях доминирующими являются генетические механизмы клеточной гибели. Второе — когда гибель клеток возникает в результате слишком интенсивных или длительных воздействий факторов внутриклеточной или внеклеточной микросреды, когда адаптационные механизмы не справляются со стрессом и клетка не в состоянии восстановить свой гомеостаз. В этих случаях в качестве стрессоров могут выступать также и DAMP [62].

Цитологические изменения положены в основу классификации следующих форм гибели клеток: гибель клеток I типа, или апоптоз; гибель клеток II типа, или аутофагия и гибель клеток III типа, или некроз [96].

Результаты изучения сигнальных каскадов, адапторных молекул и транскрипционных факторов, задействованных в клеточной гибели, свидетельствуют о том, что в подавляющем большинстве случаев программы гибели клеток не являются ни изолированными, ни взаимоисключающими. Чаще всего молекулярные пути, способствующие выживанию, задействованы наряду с индукцией сигналов клеточной смерти. Более того, сами по себе стрессовые факторы могут привести к активации не только адаптационных механизмов, но и множества механизмов смерти клеток, которые могут иметь различную степень совпадения. Поэтому считается, что перекрест между путями, способствующими выживанию, и путями, способствующими смерти, определяют, погибнет ли клетка в конечном итоге и с помощью какой генетической программы.

На основании изложенного выше, группа авторов во главе с Galluzzi L. et al., 2012 предложила следующую классификацию регулируемой клеточной гибели:

- аноикс (вариант апоптоза)
- аутофагия
- каспаз-зависимый внутренний апоптоз
- каспаз-независимый внутренний апоптоз
- корнизация
- энтозис
- внешний апоптоз, обусловленный рецепторами смерти
- митотическая катастрофа
- некроптоз
- нетоз
- партанатоз
- пироптоз

Представленные варианты гибели клеток, в свою очередь, авторы разделяют на запрограммированные формы гибели клеток, задействованные в эмбриональном/постэмбриональном периодах развития и тканевого гомеостаза, регулируемые формы гибели клеток, опосредован-

ные специализированными молекулярными механизмами и случайные формы гибели клеток в виде некроза [61].

Как видим, гибель клеток — это многообразный и сложный процесс, не до конца изученный и являющийся весьма перспективной областью молекулярно-генетических исследований. Соответственно классификация форм гибели клеток строится на постоянно обновляющемся потоке научной информации и по этой причине является достаточно вариативной. В контексте предмета настоящего обзора наибольшее патогенетическое значение при ИВРЗ имеют аутофагия, апоптоз, некроптоз, пироптоз и нетоз.

Во всех этих случаях гибель клеток обусловлена реализацией соответствующих генетических программ. Реализация этих программ связана с универсальными, эволюционно закрепленными внутриклеточными процессами, затрагивающими структурно-функциональное состояние плазмалеммы, внутриклеточных органелл и цитозоля. Речь идет, прежде всего, об эндоцитозе. При эндоцитозе определенный участок плазмалеммы захватывает и обволакивает внеклеточный материал, который таким образом попадает внутрь клетки. Этот материал заключен в эндосому, образованную из фрагментов плазмалеммы, затем эндосома отрывается от плазмалеммы и поступает в цитозоль. Образованию эндосом предшествует формирование так называемых удлиненных эндоцитозных каналов.

Выделяют три вида эндоцитоза: фагоцитоз, специфический эндоцитоз и пиноцитоз. При ИВРЗ наибольшее значение имеют первые два. Эндоцитоз активируется в присутствии поврежденных или отмерших клеток, в том числе и DAMP. Важно заметить, что одной из ключевых особенностей эндоцитоза является его селективность. Селективность эндоцитоза обусловлена активацией и функционированием адаптерных белков (адаптерных комплексов), в частности семейства AP (AP1, AP2, AP3, AP4).

В процессе трансформации захваченного материала важная роль принадлежит внутриклеточным органеллам — аппарату Гольджи, эндоплазматическому ретикулуму (ER) и лизосомам, именуемой системой ГЭРЛ. Любой участок плазмалеммы участвует в неспецифическом эндоцитозе, а локальные изменения клеточной мембраны являются сигналом для инициации фагоцитоза.

Сформированные эндосомы, сливаясь друг с другом, а также с лизосомами, преобразуются в эндоцитозные вакуоли. В случаях, когда эндоцитозные вакуоли сливаются с первичными лизосомами, образуются вторичные лизосомы, имеющие кислый pH, содержащие широкий набор

гидролаз и других ферментов, где обеспечивается распад поглощенных клеткой экзогенных и эндогенных веществ. Этот процесс определяется, как гетерофагия. В случаях, когда в лизосомах происходит утилизация только внутриклеточного материала, этот процесс определяется как аутофагия. Важно заметить, что известные механизмы эндоцитоза позволяют рассматривать последний как аналог активного транспорта веществ через клеточную мембрану.

Во всех описанных процессах есть общая черта, а именно — участие в них всех видов мембран, что дает основание для их определения, как мембран-ассоциированные. Клеточная мембрана может спонтанно осциллировать, ундулировать, изгибаться, образовывать разнообразные инвагинации. При спонтанной осцилляции и инвагинации мембран может происходить случайный захват внеклеточного материала, в том числе и DAMP. Большое значение имеет явление рециклизации мембран. Под этим понятием подразумеваются процессы новообразования мембран, кругооборот материала мембран в ходе эндоцитоза, транспорт макромолекул (везикул) от плазмалеммы к системе ГЭРЛ. Рециклизация — основной путь обновления мембран, также рециклизация является фактором устойчивости и стабильности эндоцитоза. Выделяют три пути рециклизации мембран — безлизосомная рециклизация, лизосомная рециклизация и сочетание эндо- и экзоцитоза через аппарат Гольджи. Кроме этого, важное значение в клеточном гомеостазе имеет феномен транцитоза, при котором клетки, захватывая путем эндоцитоза вещества, в том числе и клеточный детрит, переносят их в эндосомах без какой-либо трансформации в цитоплазме к другой стороне клетки, где эндосома сливается с плазмалеммой и выбрасывает содержимое во внеклеточную среду. Таким образом транцитоз имеет отношение к межклеточному обмену макромолекул и транспорту веществ [1].

Описанные процессы являются универсальными для всех видов клеток, прежде всего фагоцитирующих, и являются основой реализации указанных выше основных форм гибели клеток, имеющих неоспоримое патогенетическое значение при ИВРЗ.

Значение аутофагии в воспалении и аутоиммунитете

К фундаментальным механизмам поддержания клеточного гомеостаза и жизнеспособности клеток относится феномен аутофагии. В соответствии с современными представлениями, аутофагия — это эволюционно консервативный, конститутивный, регулируемый катаболический процесс внутриклеточной лизосомальной дегра-

дации нежелательных цитоплазматических компонентов и переработки питательных веществ.

Термин «аутофагия», от греческого «поедание себя», был впервые использован Clark S.L. в 1957 г. и затем бельгийским ученым de Duve C. и соавт. в 1967 г. (автором открытия лизосом) на основании экспериментальных данных о том, что в гепатоцитах крыс увеличение размера лизосом связано с образованием аутофагической вакуоли с последующей деградацией в ней митохондрий и других внутриклеточных структур [47].

Однако понимание фундаментального биологического смысла этого феномена пришло со времени открытия в 1992 г. японским ученым Yoshinori Ohsumi аутофагосом у дрожжей и 14 генов аутофагии — ATG генов. Работы Yoshinori Ohsumi и его школы объяснили механизмы, с помощью которого клетки устраняют изношенные белковые комплексы и органеллы, которые были слишком велики, чтобы их можно было разрушить другими способами. Накопление таких компонентов повреждает клетки и может привести к ее гибели. Аутофагия также является адаптивной реакцией для обеспечения питательными веществами и энергией при воздействии различных стрессоров [174].

Базальные уровни аутофагии принимают участие в физиологическом обмене белков и удалении старых или поврежденных органелл. Уровень аутофагии повышается в ответ на различные внеклеточные и внутриклеточные стрессовые воздействия, такие как нехватка питательных веществ и факторов роста, гипоксия, накопление белковых агрегатов, бактериальные и вирусные инфекции. Особенно важна аутофагия в процессах эмбриогенеза. При недостатке питательных веществ аутофагия является резервом для выживания клеток, когда разложение аутологических белков и органелл позволяет перерабатывать их компоненты и использовать их в основных метаболических процессах [129].

В случаях, когда резервы становятся недостаточными, аутофагия может привести к клеточной смерти от автоканнибализма. Важной функцией аутофагии является удаление поврежденных компонентов цитоплазмы.

С учетом различных путей, по которым внутриклеточные компоненты транспортируются в лизосомы, выделено три основных типа аутофагии — макроаутофагия, микроаутофагия и аутофагия, опосредованная шаперонами (СМА).

При макроаутофагии, называемой также аутофагией, часть цитоплазмы (0,5–1 мкм в диаметре), включающая в себя белки, органеллы или другие материалы, окружаются изолирующей мембраной, формируя так называемые «фагофоры». Фагофоры расширяются и закрываются двух-

мембранной структурой, образуя аутофагосомы. Аутофагосомы, транспортируясь в цитоплазме, сливаются с лизосомами и образуют аутолизосомы, что приводит к деградации содержимого аутофагосомы в кислой среде лизосомальными ферментами [128].

Аутофагосомы также могут сливаться с эндосомами, а также, что наиболее важно в контексте настоящего обзора, с загрузочными отсеками МНС II класса. Иными словами, аутофагия является важным компонентом процесса презентации экстрацеллюлярного антигенного материала МНС II класса, включая и DAMP [137, 164].

Показано, что эндоплазматический ретикулум (ER) имеет решающее значение для формирования аутофагосом. Цистерны ER имеют в своем составе субдомен, обогащенный фосфатидилинозитол-3-фосфатом (PI), напоминающий по своей морфологии греческую букву омега и названный омегасомой. Омегасомы принимают участие в формировании мембраны фагофоров и, в последующем, аутофагосом, являясь их частью. Также в формировании аутофагосом принимают участие митохондрии, плазмалемма и ядерная мембрана.

Необходимо отметить, что в образовании омегасом принимает участие один из ключевых регуляторных белков аутофагии — беклин-1. Кроме этого, беклин-1 является важным компонентом в процессах эндоцитоза и эндоцитозного транспорта. Беклин-1 представляет собой белок с двойными свойствами. В ситуации, когда он взаимодействует с таким регуляторным фактором, как активирующая молекула в регулируемой беклином-1 аутофагии (AMBRA1), процесс аутофагии запускается. В случаях взаимодействия беклина-1 с белками семейства Bcl-2 процесс аутофагии ингибируется. По этой причине белки семейства Bcl-2 являются не только антиапоптотическими, но и антиаутофагическими.

На протяжении всего процесса созревания аутофагосом важной составляющей аутофагосомальной мембраны является комплекс, состоящий из белков Atg5-Atg12, связанных с микротрубочками, и фосфатидилэтаноламином (PE), обозначенный как LC3-II. По этой причине LC3-II используется в качестве специфического маркера для мониторинга уровней аутофагии [130].

При микроаутофагии цитозольные компоненты, в частности макромолекулы, фрагменты клеточных мембран, поглощаются непосредственно самой лизосомой посредством инвагинации лизосомальной мембраны. Таким путем клетка способна переваривать аутобелки при нехватке строительного материала или энергии, что может происходить при голодании. Микроаутофагия встречается и в физиологических условиях [126].

Отметим, что при макроаутофагии и микроаутофагии задействованы как селективные, так и неизбирательные механизмы поглощения в том числе и больших внутриклеточных структур.

При СМА целевые белки транслоцируются через лизосомальную мембрану в комплексе с белками-шаперонами (такими как белки теплового шока, например, БТШ-70), которые распознаются лизосомально-ассоциированным мембранным протеином (LAMP)-2A, что приводит к их развертыванию и деградации. При этом происходит направленный транспорт частично денатурированных белков из цитоплазмы через мембрану лизосом в ее полость, где они и перевариваются. Этот тип аутофагии может индуцироваться голоданием, а также избыточными физическими нагрузками [106].

Все три типа аутофагии взаимосвязаны, в частности описана прямая перекрестная связь между макроаутофагией и СМА. В эксперименте блокирование макроаутофагии приводит к активации СМА, а блокирование СМА активирует макроаутофагию [83].

Аутофагия — это строго регулируемый процесс и ключевыми участниками этой регуляции являются белки, связанные с аутофагией — Atg-белки. Atg-белки кодируются ATG-генами. На сегодняшний день идентифицирован 41 ген ATG [194].

Белки Atg классифицируются по пяти функциональным группам и из них центральная роль принадлежит белку Atg5. Atg5 необходим для образования аутофагосом. Ингибирование Atg5 приводит к снижению или полной отмене аутофагии. Экспрессия гена ATG5 является неоспоримым маркером запуска процесса аутофагии. Белок Atg5 выполняет и другие функции, в частности участвует в восстановлении митохондрий после окислительного повреждения, в негативной регуляции врожденного противовирусного иммунного ответа, в пролиферации и дифференцировке лимфоцитов, в презентации антигена комплексом МНС II, в дифференцировке адипоцитов и апоптозе. Повышенная экспрессия Atg5 в Т-клетках может способствовать воспалительной демиелинизации при рассеянном склерозе, а также иммуно-опосредованным повреждениям миелина у экспериментальных мышей с аутоиммунным энцефаломиелитом и при СКВ [146].

Результаты полногеномного поиска ассоциаций (GWAS-исследования) свидетельствуют о статистически значимых ассоциациях гена ATG5 с аутоиммунными заболеваниями. Несколько исследований GWAS подтвердили генетические ассоциации между генетическими вариантами ATG5 и СКВ у кавказцев и азиатов. Аналогичные ассоциации были выявлены при других аутоиммунных заболеваниях, включая ревматоидный

артрит, системный склероз, болезнь Крона, сахарный диабет 2-го типа и множественную миелому. В других работах представлены данные, свидетельствующие о том, что несколько генов, связанных с аутофагией, коррелируют с восприимчивостью к СКВ, включая ATG5, CDKN1B, DRAM1, CLEC16A и ATG16L2 [120, 127, 200].

ATG5 регулирует аутофагическую активность, изменяя поляризацию макрофагов, в провоспалительные M1 или противовоспалительные M2, изменяя тем самым степень воспаления [133].

Кроме этого, имеются сведения о следующих функциях ATG5. Экспрессия ATG5 опосредованно активирует нейтрофилы. Регулирующая функция ATG5 включает в себя влияние на секрецию провоспалительных цитокинов — IL-1 α , IL-1 β , IFN γ . Нокаут гена ATG5 ингибирует пролиферативную активность CD4⁺ и CD8⁺T-клеток, вызывая также и их гибель [148, 195]. Важную роль в регуляции аутофагии играет так называемая серин-треониновая протеинкиназа млекопитающих — мишень рапамицина — mTOR (от англ. mammalian target of rapamycin (mTOR)). В клетках mTOR существует как субъединица внутриклеточных мультимолекулярных сигнальных комплексов mTORC1 и mTORC2, регулирующих клеточный рост и выживание. Особенностью mTOR является чувствительность к ингибирующему действию антибиотика стрептомицинового ряда — рапамицину, отсюда и название: мишень рапамицина — mTOR. Основным свойством mTOR в отношении аутофагии является его ингибирующий эффект. В настоящее время принята следующая схема реализации этого эффекта.

В норме комплекс mTORC1 ингибирует аутофагию путем интеграции сигналов от питательных веществ, которые генерируются аминокислотами, факторами роста (инсулиноподобные факторы роста), энергетических сигналов и различных стрессоров, включая гипоксию и повреждение ДНК. Регуляция mTORC2 осуществляется только факторами роста. mTORC1 включает в себя комплекс ULK1, куда входят ключевые белки аутофагии (Atg). При голодании, воздействии стрессовых факторов или в ответ на лечение рапамицином, mTORC1 диссоциирует, отделяя комплекс ULK1 от себя, что приводит к активации ULK1. ULK1 — это серин-пролиновая киназа, участвующая в аутофагии, особенно в условиях дефицита аминокислот. Активированная ULK1 инициирует аутофагию путем фосфорилирования белков аутофагии Atg13 и FIP200. Напротив, при избытке аминокислот и факторов роста mTORC1 также диссоциирует, но в этих условиях освободившаяся ее субъединица mTOR уже ингибирует активность ULK1, подавляет аутофагию и способствует росту клеток [124, 203].

Аутофагия играет важную роль в гомеостазе иммунных клеток. Существует сложная взаимосвязь между белками аутофагии, аутоиммунитетом и воспалением. Упомянутые выше белки аутофагии функционируют, как индукторы аутофагии, так и в качестве ингибиторов иммуновоспалительных реакций [104].

Процесс фагоцитоза, индуцированный активацией TLR-рецепторов с последующим формированием фагосом, связан с мобилизацией белков аутофагии — беклина-1, LC3, Atg5 и Atg7 [186].

Дифференцировка и пролиферация Т-лимфоцитов зависят от аутофагии. Показано, что Т-лимфоциты с дефицитом Atg5 проходят все этапы дифференцировки, но количество общих тимоцитов и периферических лимфоцитов снижается. В периферической циркуляции уровень аутофагической гибели Atg5⁺CD8⁺Т-лимфоцитов был резко увеличен. Одновременно Atg5⁺CD4⁺Т-клетки и Atg5⁺CD8⁺Т-клетки теряли способность пролиферировать после стимуляции Т-клеточного рецептора (TCR) [149].

Митохондрии и ER были расширены в Т-клетках с дефицитом Atg3. Этот же дефицит Atg3 ингибирует аутофагию в Т-лимфоцитах, что приводит к нарушению регуляции гомеостаза митохондрий и ER, накоплению дефектов этих внутриклеточных структур в Т-лимфоцитах и снижению выживаемости этих клеток. Однако имеются данные о том, что аутофагия необходима и для выживания Т-лимфоцитов. Таким образом, аутофагия, вероятно, принимает участие как в гибели Т-лимфоцитов, так и в выживании их [93].

Аналогичная картина определяется и в отношении В-лимфоцитов. Показано, что аутофагия способствует выживанию В-лимфоцитов, а также развитию ранних предшественников В-лимфоцитов. С другой стороны, аутофагия, по-видимому, является альтернативным путем смерти этих клеток, поскольку стимуляция антигенных рецепторов В-лимфоцитов (BCR) в отсутствие костимуляции вызывает мощную аутофагическую гибель клеток. Элиминация аутореактивных В-лимфоцитов путем индуцирования аутофагии может способствовать снижению аутоиммунного воспаления при ИВРЗ [122]. Ключевой аутофагический белок беклин-1 необходим для поддержания популяций недифференцированных предшественников В- и Т-лимфоцитов.

Весьма важным качеством аутофагии является ее участие в феномене кросс-презентации. Напомним, что в комплекс МНС-I встраиваются внутриклеточные пептиды, включая инфекционные АГ и АГ погибших клеток, образующиеся в цитоплазме клетки в процессе ограниченного

протеолиза в специальных образованиях — протеасомах и распознающиеся CD8⁺ лимфоцитами. Пептиды, презентируемые в составе молекул МНС-II, имеют внеклеточное происхождение и взаимодействуют с CD4⁺ лимфоцитами. При этом в результате эндоцитоза формируются ранние эндосомы, содержащие интернализированные белки из межклеточного пространства. В ходе кросс-презентации молекулы МНС-I презентируют внеклеточные экзогенные АГ, которые обычно презентируются МНС-II. Такой способностью обладают МНС-I некоторых антиген-презентирующих клеток, в особенности, плазмацитоидные ДК. Отметим, что эти клетки способны процессировать ауто-АГ продуктов дезорганизации рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани, являющихся патогенетическим базисом ИВРЗ. С другой стороны, внутриклеточные цитозольные АГ могут быть представлены молекулами МНС-II, и при этом, вероятно, процессы аутофагии являются доминирующими. В этом случае в кросс-презентацию вовлекаются два вида аутофагии — макроаутофагия и СМА. Также аутофагия может усиливать презентацию эндогенного АГ комплексом МНС-I CD8⁺ лимфоцитам. Феномен кросс-презентации особенно актуален при СКВ [136].

Есть еще одно важное качество кросс-презентации, осуществляемое ДК — это поддержание аутоотолерантности периферических CD8⁺Т-клеток. Фагоцитируя клеточный и тканевой детрит рыхлой волокнистой соединительной ткани при ИВРЗ, ДК, присутствующие в том числе в составе КВИ, посредством кросс-презентации аутоАГ комплексом МНС-II CD8⁺ клеткам индуцирует клональную делецию аутореактивных CD8⁺ клеток [102].

В контексте настоящего обзора важными являются результаты исследований, свидетельствующих о том, что в медуллярных эпителиальных клетках тимуса аутофагия способствует комплексованию МНС-II с ауто-АГ, что способствует отрицательному отбору аутореактивных CD4⁺Т-клеток. Нарушение аутофагии может способствовать, соответственно, отмене центральной аутоотолерантности и индукции аутоиммунного ответа на собственные АГ [9].

Аутофагия в лимфатических эндотелиальных клетках (LECs) влияет на активацию Т-клеток при экспериментальном артрите. В то время как генетическая отмена аутофагии в LECs не изменяет иммунный гомеостаз, она вызывает изменения популяции регуляторных Т-клеток (Treg-клеток) в лимфатических узлах у мышей с артритом, что может быть связано с МНС-II-презентацией антигена LECs-клетками. Кроме того, аутофагия в LECs, вызванная воспали-

ем, способствует деградации сфингозинкиназы 1 (SphK1), что приводит к снижению продукции сфингозин-1-фосфата S1P. Эти липиды способствуют выживанию наивных Т-клеток и выходу эффекторных Т-клеток из лимфатических узлов. По этой причине у мышей с артритом, у которых отсутствует аутофагия в LEC, усиливается миграция патогенных Th17-клеток в очаг воспаления, а также инфильтрация воспаленных суставов, что приводит к обострению артрита. Эти результаты подчеркивают значение аутофагии, как важного регулятора иммуномодулирующих функций LECs при воспалительных состояниях [68].

Аутофагия принимает участие во врожденном иммунитете, защищая цитозоль от инфицирования патогенными микробами (стрептококки, стафилококки, туберкулезная палочка, паразиты). С учетом важности подобных свойств аутофагии, была выделена отдельная ее форма, избирательно устраняющая внутриклеточные патогены, названная *ксенофагией*.

При ИВРЗ взаимодействия рецепторов врожденного иммунитета, (TLR-, NLR- и RIG-рецепторов) с молекулярными паттернами, связанными с дезорганизацией рыхлой волокнистой соединительной ткани при ИВРЗ (DAMP), такими как группа белков высокой подвижности box 1 (HMGB1), комплексы АТФ и ДНК, высвобождаемые из поврежденных клеток, способствует индукции аутоиммунного ответа на ауто-АГ. Активация рецептора В-лимфоцитов (BCR) переносит мембранный TLR9 в аутофагосомы, где TLR9, по-видимому, взаимодействует со своими лигандами (DAMP). Белки аутофагии — Atg5, Atg9 и Atg12 принимают участие в негативной регуляции продукции провоспалительных INF I типа [46].

Взаимосвязь аутофагии с врожденным иммунным ответом весьма демонстративно представлена в работе Xu Y. и соавт. [194]. В качестве индуктора аутофагии авторы использовали липополисахарид (LPS), полученный из *Escherichia coli*. LPS, являющийся составной частью клеточной стенки грамотрицательных бактерий, как известно, является лигандом для рецептора TLR4, экспрессирующегося на клетках макрофагально-моноцитарного ряда. Подобное связывание индуцирует в том числе внутриклеточные молекулярные процессы, описанные выше, приводящие к аутофагии. LPS-индуцированная аутофагия (100 нг/мл) в клеточной линии макрофагов мыши RAW264.7 и в альвеолярных макрофагах человека приводила к перераспределению в цитоплазме клеток ассоциированного с микротрубочками белка 1 легкой цепи 3 (LC3, также известного как аутофагический белок Atg8). Это перераспределение сопровождалось переходом

диффузного окрашивания к точечному, типичному для сформировавшейся аутофагосомы.

На рисунке 1 слева представлены контрольные клетки линии макрофагов мыши RAW264.7. Видно, что окрашивание Atg8 носит диффузный характер. В случае, когда клетки были проинкубированы с LPS в течение 8 часов зеленая флуоресценция Atg8 переходила в точечную, что свидетельствовало о формировании аутофагосом. Зеленая флуоресценция вызывалась антителами к Atg8, меченных зеленым красителем GFP.

На рисунке 2 представлена картина иммунофлуоресценции комплекса GFP с антителами к Atg8 в альвеолярных макрофагах человека.

Видно, что и в этом случае, интактные Мф окрашиваются диффузно, снимок слева. ЛПС-стимуляция альвеолярных макрофагов человека приводит к перераспределению иммунофлуоресценции от диффузной к точечной, что также свидетельствует о формировании аутофагосом, снимок справа. На этом же рисунке 2 (крайний справа снимок) представлены результаты ультраструктурного анализа LPS-индуцированной аутофагии методом просвечивающей электронной микроскопии в альвеолярных макрофагах человека, подтверждающие наличие маркера аутофагии, а именно — цитоплазматических аутофагических вакуолей.

Очевидно, что аутофагия во всех ее проявлениях и формах принимает активное патогенетическое участие при ИВРЗ. Подтверждением сказанного являются результаты следующих, наиболее демонстративных исследований. Показано, что при СКВ ключевым фактором аномальной активации лимфоцитов является передача

сигналов от mTOR. Кроме этого, подобной аномальной активации Т-лимфоцитов при СКВ способствует увеличение митохондриальной массы Т-лимфоцитов вследствие гиперполяризации митохондрий, связанной с аутофагией [140].

Также показано, что при СКВ апоптотические клетки накапливаются в зародышевых центрах лимфатических узлов и этот апоптотический материал связывается с поверхностью фолликулярных дендритных клеток (фДК). фДК презентуют ауто-АГ В-клеткам, которые дифференцируются в плазматические клетки, продуцируя ауто-АТ и В-клетки памяти. В этих процессах аутофагия в ДК может способствовать упаковке антигена для оптимальной кросс-презентации молекул МНС-II CD8⁺Т-клеткам [137].

Активация аутофагии, обнаруженная на ранних стадиях В-клеток у пациентов с СКВ, была необходима для развития плазмбластов, что свидетельствует о существенной роли аутофагии в выработке аутоантител при СКВ. Макроаутофагия также была повышена в Т-клетках, продуцирующих IFN γ , а процент клеток с признаками аутофагии положительно коррелировал с активностью заболевания [114]. Более того, в цитоплазме Т-клеток больных СКВ были обнаружены увеличенные аутофагические вакуоли, особенно в наивных CD4⁺Т-клетках [12]. Аутофагическая активация периферических Th17/Treg-клеток у пациентов с СКВ может привести к усилению провоспалительного ответа Th17-клеток и снижению функции Treg клеток [13].

Мутации гена ATG5 при СКВ ассоциированы с нарушением регуляции секреции провоспалительных цитокинов, клиренса умираю-

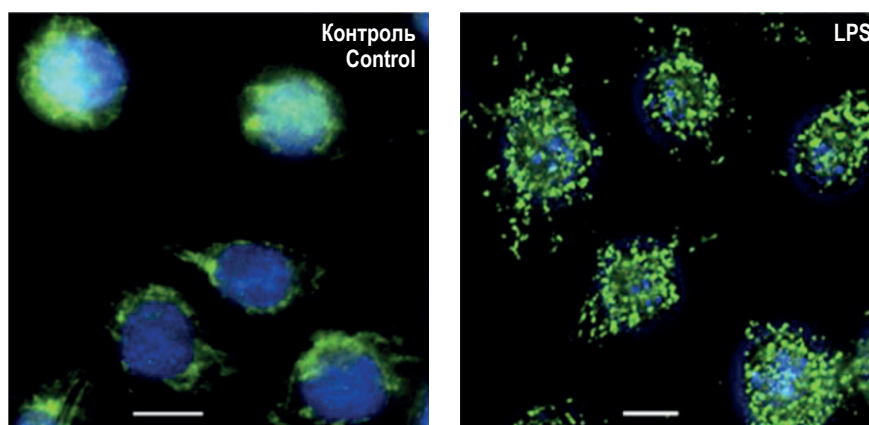


Рисунок 1. LPS-индуцированная аутофагия в клеточной линии макрофагов мыши RAW264.7

Примечание. Слева – интактные макрофаги, диффузно окрашенные комплексом антитела к Atg8, меченных зеленым красителем GFP; справа – LPS-индуцированная аутофагия, сопровождающаяся точечной зеленой флуоресценцией. Метод иммунофлуоресценции, по материалам [191].

Figure 1. LPS-induced autophagy in the mouse macrophage cell line RAW 264.7

Note. On the left, intact macrophages diffusely stained with Atg8 antibody complex labeled with green GFP dye; on the right, LPS-induced autophagy accompanied by spot green fluorescence. Immunofluorescence method, based on materials [191].

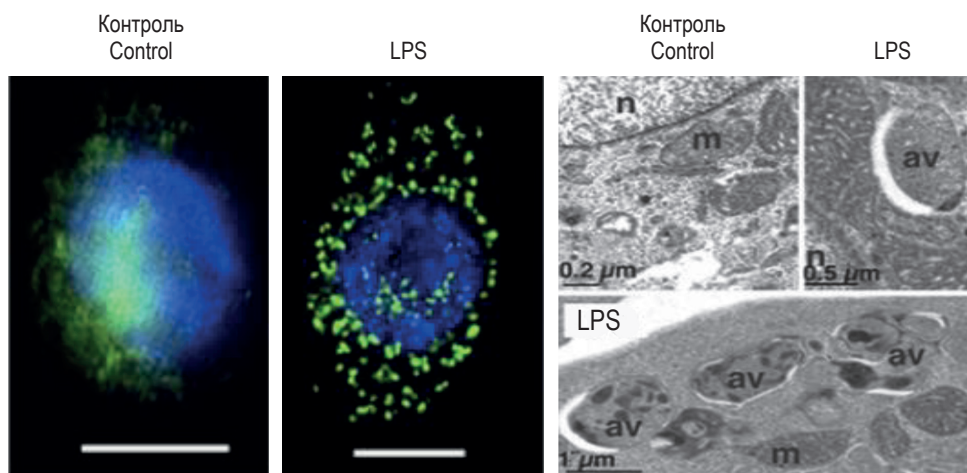


Рисунок 2. LPS-индуцированная аутофагия в альвеолярных Мф человека и ультраструктурная идентификация цитоплазматических аутофагических вакуолей

Примечание. Слева интактные альвеолярные Мф человека, окрашенные диффузно зеленым красителем GFP, конъюгированным с антителами к Atg8; справа – LPS-индуцированная аутофагия в альвеолярных Мф человека, сопровождающаяся точечной зеленой иммунофлуоресценцией. Крайний справа снимок – электронограмма LPS-стимулированных альвеолярных Мф человека. Четко видны цитоплазматические аутофагические вакуоли. av – аутофагическая вакуоль; n – ядро; m – митохондрии. Методы иммунофлуоресценции и просвечивающей электронной микроскопии, по материалам [191].

Figure 2. LPS-induced autophagy in human alveolar Mf and ultrastructural identification of cytoplasmic autophagic vacuoles
Note. On the left, intact human alveolar Mf stained with diffuse green GFP dye conjugated with antibodies to Atg8; on the right, LPS-induced autophagy in human alveolar Mf accompanied by spot green immunofluorescence. The picture on the far right is an electronogram of human LPS-stimulated alveolar Mf. Cytoplasmic autophagic vacuoles are clearly visible.
av, autophagic vacuole; n, nucleus; m, mitochondria. Methods of immunofluorescence and transmission electron microscopy, based on materials [191].

щих клеток и презентации ауто-АГ. Понимание функциональной значимости дефектов ATG5 и компенсаторных механизмов при всех формах аутофагии может привести к разработке новых вмешательств, направленных на модуляцию, в частности, ATG5 в терапевтических целях при СКВ.

Показана центральная патогенетическая роль аутофагии в процессах деструкции суставов при РА. При РА аутофагия была активирована в остеокластах, в которых определялась повышенная экспрессия беклина-1 и Atg7. В этих же клетках TNF α индуцировал экспрессию генов, связанных с аутофагией, влияя на дифференцировку остеокластов и этот эффект был связан с воспалительной резорбцией костной ткани. Также отмечено усиление аутофагии в синовиальной ткани при РА на основании сверхэкспрессии беклина-1 и LC3 [109].

Двоякая роль аутофагии при РА была продемонстрирована в работе Kato M. и соавт., 2014 [82]. Авторы показали, что уровень аутофагической гибели синовиальных фибробластов при РА, подвергнутых клеточному стрессу (точнее так называемому стрессу эндоплазматиче-

ского ретикулума – ER) был увеличен по сравнению с таковой в синовиальных фибробластах при остеоартрите. Однако эта же аутофагия в этих же клетках, но в которых индуцировался апоптоз, обусловленный ингибированием протеасом, играла защитную роль.

Высокая активность аутофагии, зарегистрированная по уровню мРНК белков аутофагии – беклина-1, Atg5 и LC3 в синовиальной ткани пациентов с РА, коррелировала с уровнями в сыворотке крови маркеров, связанных с активностью РА – С-реактивным белком, СОЭ, ревматоидным фактором и АТ к цитрулинированным пептидам. Возможно, что оценка уровня аутофагии в биоптатах синовиальной ткани может быть полезной при диагностике РА и оценке активности заболевания. Кроме этого, снижение уровня экспрессии генов, связанных с аутофагией, может стать терапевтической мишенью при активном РА [201].

Таким образом, актуальность изучения патогенетического значения всех типов аутофагии при ИВРЗ очевидна. Не менее очевидна взаимосвязь аутофагии с аутоиммунитетом. Механизм аутофагии позволил объяснить индукцию ци-

тотоксического иммунного ответа, основными эффекторами которого являются $CD8^+$ клетки, на внеклеточные АГ с участием молекул МНС-I. При ИВРЗ этот феномен кросс-презентации является основополагающим в отношении иммуногенности ауто-Г, или DAMP, при дезорганизации рыхлой волокнистой соединительной ткани. Особенно важна патогенетическая взаимосвязь аутофагии с апоптозом, некроптозом и пироптозом (см. ниже). При ИВРЗ указанные виды гибели клеток в составе КВИ являются доминирующими, и одновременно молекулярно-клеточные следствия этих процессов обуславливают формирование патогенетических звеньев при ИВРЗ. Понимание функционального баланса между патогенной и цитопротекторной аутофагией, возможностей модуляции этих процессов крайне важно в отношении патогенетической интерпретации аутофагии при ИВРЗ, что также расширяет спектр мишеней для их фармакологической коррекции.

Апоптоз при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях

Апоптоз относится к важным биологическим процессам, регулирующим гомеостаз миллиардов клеток и являющийся необходимым условием существования многоклеточных организмов. Одной из основных функций апоптоза является элиминация поврежденных, мутантных, инфицированных клеток, а также участие в развитии и функционировании клеток иммунной системы на этапе негативной и позитивной селекции и морфогенезе лимфоидных органов.

Апоптоз представляет собой процесс программируемой клеточной гибели, развивающийся в течение 1-3 часов, сопровождающийся сморщиванием и уменьшением размеров клетки, уплотнением плазмолеммы, формированием

мембранных вздутий, конденсацией хроматина, уменьшением размера и фрагментацией ядра. Происходят разрывы ДНК и формирование нуклеосом. От клетки отделяются «апоптотические тельца» — фрагменты ядра, окруженные мембраной, которые подвергаются немедленно фагоцитозу Мф. Принципиальным элементом описанных процессов является ферментативная активность группы цистеиновых протеаз, расщепляющих полипептидную связь после остатков аспарагиновой кислоты, называемых каспазами. Эти протеазы нацелены на несколько сотен белков для ограниченного контролируемого протеолиза, что сводит к минимуму повреждения и разрушения соседних клеток и позволяет избежать высвобождения иммуностимулирующих молекул. В совокупности эти протеолитические события вызывают фенотипические изменения в клетке, характерные для апоптоза. При этом ключевая роль при апоптозе принадлежит каспазе-8, каспазе-9 и каспазе-3. Продукты апоптотического распада клеток не поступают в межклеточное пространство и не вызывают воспаления, в отличие от некроза клеток.

На рисунке 3 представлена цитоморфология апоптоза. Крайний слева снимок демонстрирует вид двух клеток HeLa, не подвергшихся апоптозу. Посередине эти же две клетки, подвергшиеся апоптозу после 12-часовой экспозиции с даунорубицином (10 мкмоль). Видны классические признаки апоптоза — сморщивание и уменьшение размеров клетки, уплотнение плазмолеммы, формирование обширных мембранных пузырьков. Крайний справа снимок показывает признаки апоптогенного распада клеточного ядра, индуцированного в данном случае обработкой актиномицином D (5 мкмоль) с последующим окрашиванием ядер синим красителем Hoechst.

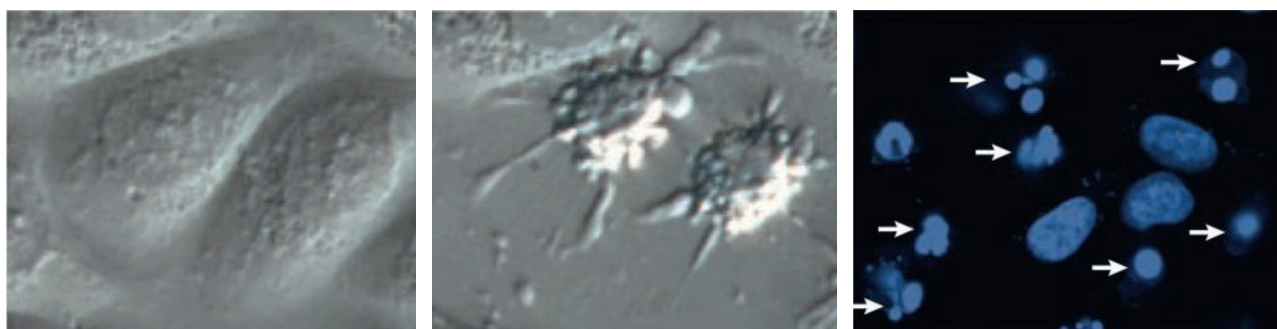


Рисунок 3. Цитологические признаки апоптоза

Примечание. Слева клетки HeLa, не подвергшиеся апоптозу, посередине эти же клетки, подвергшиеся апоптозу, справа апоптогенная фрагментация и конденсация ядер этих же клеток, по материалам [177].

Figure 3. Cytological signs of apoptosis

Note. On the left, HeLa cells that have not undergone apoptosis, in the middle, the same cells that have undergone apoptosis, on the right, apoptogenic fragmentation and condensation of the nuclei of the same cells, according to materials [177].

Четко видна фрагментация и конденсация ядер этих же клеток (показано стрелками).

Понятие «апоптоз» было впервые введено в научный обиход в 1972 г. австралийскими учеными Дж. Керром, А. Уайли и А. Карри [85]. В своей работе эти ученые впервые представили подробные цитологические характеристики апоптоза, которые используются до настоящего времени.

Выделяют три фазы развития апоптоза — включения пусковых механизмов (сигнальную), эффекторную (связанную с активацией каспаз) и завершающую фазу — фазу реализации гибели клетки.

Иницируется апоптоз при воздействии разнообразных внеклеточных и внутриклеточных факторов. При этом активируются два основных пути передачи апоптотического сигнала — это рецепторный и митохондриальный.

Рецепторный, или внешний, сигнальный путь начинается с взаимодействия апоптогенных внеклеточных лигандов с рецепторами клеточной гибели, экспрессированными на плазмалемме клеток-мишеней. Это, прежде всего, рецепторы семейства TNF α (TNFR), цитоплазматическая часть которых представлена доменами смерти (DD-домен), необходимые для трансдукции сигналов апоптоза. К ним относятся: Fas-рецептор (APO-1, CD95, DR2), TNFR1 (p55, CD120a, DR1) и рецепторы смерти (death receptors) — DR3, DR4, DR5 и DR6. Лигандами для Fas-рецептора являются Fas-лиганд (FasL, CD178), для TNFR1 — цитокин TNF α , для DR4 и DR5 — TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) и для DR3 и DR6 — молекула TL1A.

Взаимодействие указанных лигандов активируют апоптогенные рецепторы и обуславливают последующее взаимодействие с внутриклеточными адапторными белками. Для Fas-рецептора адапторным белком является FADD (Fas-associated death domain). Для рецепторов TNFR1, DR3 и DR6 адаптером является TRADD (TNFR1-associated death domain).

Адаптерные белки, ассоциированные с апоптогенными рецепторами смерти, вступают во взаимодействие с предшественниками эффекторных каспаз — прокаспазы и обуславливают ключевое событие на этом этапе апоптоза, а именно — формирование молекулярных комплексов, в которых происходит активация каспаз. Эти комплексы именуются апоптосомами. Примером апоптосомы может служить комплекс FasL-Fas-рецептор-FADD-прокаспазы-8. FADD, также как и TRADD, вызывают активацию каспазы-8 — ключевого апоптогенного фермента. Принципиальный механизм активации каспазы-10, вероятно, аналогичный.

Митохондриальный, или внутренний, сигнальный путь запуска апоптоза реализуется в результате выхода апоптогенных белков из митохондрий в цитоплазму клетки, вследствие разрыва митохондриальной мембраны или повышения проницаемости внешней мембраны митохондрий. При этом важная роль принадлежит белкам семейства Bcl-2. Их разделяют на проапоптотические (Bid, Bax, Bax-XS, Bak и др.) и антиапоптотические (Bcl-2, Bcl-XL, Mcl-1, Bcl-W и др.). Запуск сигналов к апоптозу связан с проапоптотическими Bcl-2-белками, прежде всего, Bax и Bak. Эти белки встраиваются в наружную мембрану митохондрий и олигомеризуются, нарушая целостность внешней мембраны митохондрий и формируя трансмембранные поры. В результате из межмембранного пространства митохондрий в цитозоль устремляются белки, участвующие в апоптозе — цитохром C, фактор Araf-1 (Apoptosis Protease Activating Factor-1), флавопротеин AIF, прокаспазы -2, -3 и -9. Araf-1 представляет собой многодоменный белок, состоящий из трех функциональных областей — это N-концевого домена рекрутирования каспазы (CARD), домена связывания нуклеотидов и олигомеризации (NOD, также называемый NB-ARC) и связанных повторов WD40 в C-концевой половине белка. Фактор Araf-1 и цитохром C образуют апоптосому с указанными прокаспазы и затем с помощью апоптосом происходит активация, в частности, каспазы-9 [139, 154].

Рецепторный и митохондриальный сигнальные пути апоптоза закономерно приводят к активации каспаз. Рецепторный путь приводит к активации эффекторных каспазы-8 и каспазы-3, митохондриальный — к активации эффекторной каспазы-9. Одна из основных функций эффекторных каспаз заключается в прямом и опосредованном разрушении клеточных структур. Протеолизу подвергаются белки клеточного ядра, цитоскелета. Эффекторные каспазы ингибируют антиапоптотические белки, такие как ингибитор DFF, CAD белок, антиапоптотические белки семейства Bcl-2, а также процессы репарации и репликации ДНК.

Сказанное иллюстрируется рисунком 4.

Как видно из рисунка 4 при апоптозе сходятся два различных апоптотических сигнальных пути. Рецепторный внешний путь, или путь фактора смерти, активируется такими факторами смерти, как FasL, TNF α и TRAIL. Связывание факторов смерти с рецепторами смерти (death receptors) вызывает процессинг прокаспазы-8 в зрелую активную каспазу-8. При митохондриальном внутреннем сигнальном пути активируются проапоптотические белки Bim, Bid, Bad, Bmf, Hrk, Puma и Noxa и через ингибирование

антиапоптотических белков группы Bcl-2 индуцируют Bax/Bak-олигомеризацию. В результате этого процесса из митохондрий высвобождается цитохром С и, после связывания с фактором Араф-1, этот комплекс превращает прокаспазу-9 в активную каспазу-9. Каспаза-8, активированная во внешнем пути, и каспаза-9, активированная во внутреннем пути, расщепляют прокаспазу-3 до зрелой каспазы-3, которая расщепляет более 1300 клеточных субстратов для осуществления апоптоза [139].

Изучены другие пути инициации апоптоза, в частности вследствие активации прокаспазы-12. Этот предшественник фермента локализован в эндоплазматическом ретикулуме. Так называемый стресс эндоплазматического ретикулума (ER-стресс) сопровождается высвобождением и активацией прокаспазы-12 и связанным с этим нарушениями внутриклеточного гомеостаза ионов кальция.

В завершающей фазе апоптотические клетки подвергаются немедленному фагоцитозу, чему способствует экспрессия на их поверхности молекул, служащих для фагоцитов источником сиг-

налов типа «съешь меня». К ним относятся фосфатидилсерин (PS), в норме локализующийся на внутренней поверхности плазмолеммы и оказывающийся экспонированным снаружи при апоптозе, благодаря каспазной активности, а также тромбоспондин и остатки мембранных гликоконъюгатов.

Ферментативная активность каспазы-8 в очаге воспаления способствует появлению DAMP, таких как кальретикулин (CRT), которые также функционируют как сигнал «съешь меня» для фагоцитирующих клеток [143].

Кроме этого, к аналогичным сигнальным молекулам относятся модифицированные окислением молекулы, а также фосфатидилсерин (PS), но локализованный уже на внешней листке плазмалеммы. PS функционирует как лиганд для молекулы TIM-4, которая экспрессируется на дендритных клетках и способствует поглощению апоптотических клеток [90].

Также было показано, что две другие молекулы, а именно: специфичный для мозга ингибитор ангиогенеза 1 (BAI1) и стабиллин-2 (мембранный рецептор для фосфатидилсерина) способствуют

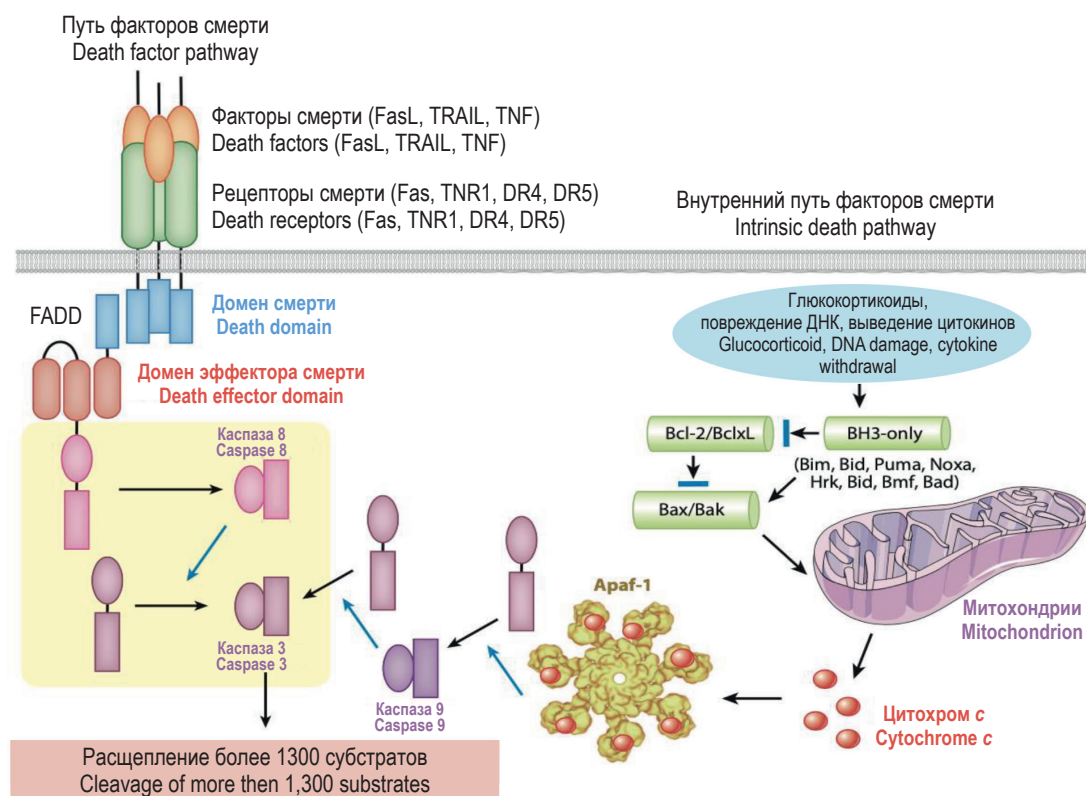


Рисунок 4. На схеме отражены основные этапы рецепторного (внешнего) и митохондриального (внутреннего) сигнальных путей апоптоза, приводящих к активации каспазы-3, каспазы-8 и каспазы-9

Примечание. Слева представлен рецепторный сигнальный путь, справа – митохондриальный сигнальный путь, по материалам [139].

Figure 4. Diagram shows the main stages of the receptor (external) and mitochondrial (internal) signaling pathways of apoptosis, leading to the activation of caspase-3, caspase-8 and caspase-9

Note. On the left is the receptor signaling pathway, on the right is the mitochondrial signaling pathway, according to materials [139].

поглощению продуктов апоптоза фагоцитирующими клетками посредством распознавания PS [144].

Некоторые исследователи выделяют еще один апоптогенный стимул фагоцитоза, а именно: сигнал «найди меня», имея в виду, что подобный сигнал стимулируют прежде всего хемотаксис Мф. К такого рода сигналам относится лизофосфатидилхолин (LPC), генерирующийся вследствие ферментативной активности фосфолипазы A2 (PLA2), которая в свою очередь активируется апоптогенными каспазами [100].

Также к таким сигналам относят высвобождение апоптотическими клетками аденозинтрифосфата (АТФ) и уридинтрифосфата (УТР).

Рецепторный аппарат Мф взаимодействует с указанными поверхностными молекулами, что обеспечивает быстрый фагоцитоз апоптотических клеток. Такое завершение апоптоза очень важно для организма, поскольку предотвращает поступление внутриклеточных компонентов, включая ДНК, в межклеточное пространство и последующее развитие воспаления и аутоиммунных процессов. Таким образом, фагоцитоз Мф апоптотических клеток несет в себе черты противовоспалительной реакции.

Этой же реакции способствует продукция фагоцитами, после поглощения апоптотических клеток, противовоспалительных цитокинов, образно названных цитокинами «толерантности ко мне». К таким цитокинам относятся известные TGF- β и IL-10. Одновременно снижается секреция *in situ* провоспалительных цитокинов (TNF α , IL-1 и IL-12) и таким образом указанные факторы активно создают противовоспалительную среду в местах гибели апоптотических клеток [134].

Однако избыточный фагоцитоз нуклеиновых кислот может быть источником МНС-презентации ауто-АГ, ведущим к развитию ИВРЗ, в частности СКВ. Уменьшению иммуногенности нуклеиновых кислот способствует активированная каспазой ДНКаза (называемая CAD) отвечающая за межнуклеосмальное расщепление геномной ДНК, которая обладает более слабыми иммуностимулирующими свойствами, чем высокомолекулярная ДНК [116].

В случаях, когда фагоцитарная активность Мф не обеспечивает полноценную элиминацию апоптотических клеток, эти клетки остаются потенциальными источниками ауто-АГ с последующей возможностью индукции аутоиммунного ответа.

Достаточно интересными являются данные, согласно которым пептиды, полученные из апоптотических клеток, поглощенные Мф и ДК, могут быть представлены на молекулах МНС I класса и использоваться для цитотоксических реакций

Т-лимфоцитов. Иными словами, налицо признаки кросс-презентации экстрацеллюлярного антигенного материала CD8⁺ цитотоксическим Т-лимфоцитам в процессе апоптоза. В индукции аутоиммунного ответа при ИВРЗ данному феномену отводится существенное патогенетическое значение [10].

Важным является вопрос взаимоотношений апоптоза и воспаления. Многие факторы и сигнальные пути, которые активируются воспалением, участвуют в регуляции апоптоза клеток. Ниже представлены некоторые экспериментальные данные, свидетельствующие о противовоспалительных качествах апоптоза и эти данные имеют непосредственное отношение к ИВРЗ.

Недавние исследования показали, что каспаза-3 ингибирует выработку интерферонов I типа путем расщепления cGAS (сенсор, обнаруживающий наличие ДНК в цитоплазме), тем самым подавляя апоптоз [141].

Кроме того, иммуносупрессивные цитокины, такие как TGF- β и IL-10, высвобождаются во время фагоцитоза апоптотических клеток [185].

Активация Т-клеток может быть подавлена апоптотическими клетками в эксперименте *in vitro*. Кроме этого, было показано, что отсутствие в клетках опухоли меланомы 2 (AIM2) внутриклеточных PRR-рецепторов активирует каспазу-3, параллельно с каспазой-1 [156].

Противоположный эффект наблюдался в случае, когда еще один член цитоплазматического PRR — NLRP3, после взаимодействия с бактериальным порообразующим токсином нигерицином, вызывал активацию апоптотических каспаз [150].

Показано также, что проапоптотические Bcl-2-белки (Bax, Bak и др.) ингибируют активацию NLRP3-инфламмосомы, предотвращая цитозольное высвобождение митохондриальной ДНК [50].

Представленные результаты экспериментальных исследований подтверждаются клиническими наблюдениями. В частности, недостаточная элиминация апоптотических макрофагов при хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), фиброзе легких и муковисцидозе приводит к длительной воспалительной реакции [5, 70, 184].

Альвеолярные макрофаги у пациентов с тяжелой астмой, включая детей, не способны полностью элиминировать апоптотические клетки и в этой связи к лечению таких больных подключают средства, стимулирующие фагоцитарную активность Мф [58].

Также известно, что апоптотические клетки индуцируют синтез клетками макрофагально-моноцитарного ряда противовоспалительных

медиаторов, таких как TGF- β , простагландин E2 и фактор активации тромбоцитов (PAF).

В связи с представленными результатами была высказана точка зрения, что если некроз активно инициирует иммунный ответ на продукты клеточного распада и участвует в развитии воспаления, то апоптоз является доминирующей формой гибели клеток, индуцирующей иммунную толерантность. Однако чрезмерный, ускоренный апоптоз, возникающий при недостаточном удалении апоптотических клеток, например, при СКВ, может привести к массивному накоплению этих клеток, которые подвергаются вторичному некрозу [81].

Потеря целостности плазматической мембраны и высвобождение клеточного содержимого вторичными некротическими клетками, которые можно отнести к DAMP, могут спровоцировать иммунный ответ на ауто-АГ и способствовать развитию СКВ. При этом аутоантитела способствуют поглощению вторично некротизированного клеточного материала фагоцитами, что сопровождается секрецией большого количества провоспалительных цитокинов этими клетками [152].

Необходимо обратить внимание на следующий аспект патофизиологии апоптоза, касающийся аутоиммуногенности продуктов этого процесса. В работах [11, 160] показано, что незрелые ДК способны к фагоцитозу апоптотических клеток, хотя и не так эффективно, как макрофаги. Эти ДК могут перекрестно представлять вирусные, опухолевые и аутоантигены цитотоксическим CD8⁺Т-клеткам, активируя их аутоиммунные качества. Одновременно цитотоксические CD8⁺Т-клетки сами могут индуцировать апоптоз мишеневых клеток посредством Fas-рецепторного механизма.

Было высказано предположение, что апоптотические клетки способствуют созреванию ДК путем усиления экспрессии костимулирующих молекул и индуцирования высвобождения провоспалительных цитокинов, одновременно стимулируя ауто-АГ-презентирующую функцию этих клеток. Эти же апоптотические клетки способны индуцировать и специфические Т-клеточные реакции [76]. ДК обладают ограниченной способностью к лизосомальной деградации (протеолизу) апоптотического материала из-за низкого содержания лизосомальных протеаз. Медленный протеолиз приводит к накоплению сигналов опасности (DAMP), которые взаимодействуют с TLR- и NLR-рецепторами со всеми вытекающими из этого аутоиммунными и воспалительными последствиями [55].

Дополнительным фактором аутоиммунизации является то, что материал апоптоза сти-

мулирует дифференцировку В-лимфоцитов с Ig-рецепторами для апоптотических клеток в сторону продукции ауто-анти-апоптотических АГ. Соответственно, В-клетки, которые реагируют с апоптотическими клетками, могут нарушить баланс между толерантностью и аутоиммунитетом.

В свете представленных данных нашла обоснование следующая точка зрения относительно влияния аномального апоптоза на индукцию аутоиммунного ответа при ИВЗР (рис. 5). Согласно схеме, фагоцитоз апоптотических клеток Мф и ДК обычно сопровождается противовоспалительной реакцией и не связан с потерей толерантности. Однако неэффективное удаление апоптотических клеток влияет на образование ауто-АГ, презентация которых Мф и зрелыми ДК Т-клеткам может стимулировать выработку аутоантител.

Проиллюстрируем представленные выше принципиальные положения на примере СКВ. У пациентов с СКВ определяются повышенные показатели апоптоза, некроза и аутофагии в КВИ, а также снижение элиминации апоптотических и некротизированных клеток. Эти аномалии приводят к увеличению нагрузки ауто-АГ, модификациям этих антигенов, что усиливает воспалительные свойства ауто-АГ [40].

Подтверждением сказанного являются данные, согласно которым клубочковые апоптотические нуклеосомы были целью аутоантител против двухспиральной ДНК при волчаночном нефрите [80].

Макрофаги пациентов с СКВ имели нарушенную способность к фагоцитозу апоптотических клеток, что сопровождалось накоплением апоптотического материала в зародышевых центрах (GCS) лимфатических узлов. Фолликулярные ДК в герминативных центрах лимфоидных органов связываются с клеточным апоптотическим материалом *in situ* и это может служить сигналом для индукции аутореактивных В-клеток с последующей продукцией ауто-АГ [17]. Более того, снижение регуляции со стороны микро-РНК-98 индуцировало апоптоз в CD4⁺Т-клетках у пациентов с СКВ через активацию каспаз посредством Fas-рецептора [189].

Апоптотические Т-клетки увеличивались у пациентов с СКВ, что сопровождалось положительной корреляцией с индексом активности СКВ. В дополнение к Т-клеткам, чрезмерный апоптоз также наблюдался в фагоцитах, которые важны для удаления апоптотических клеток. Сыворотки СКВ могут индуцировать апоптоз в моноцитах и лимфоцитах, которые в свою очередь могут быть источником ауто-АГ [19]. Т-клетки при СКВ также могут индуцировать апоптоз моноцитов с помощью апоптотических лигандов.

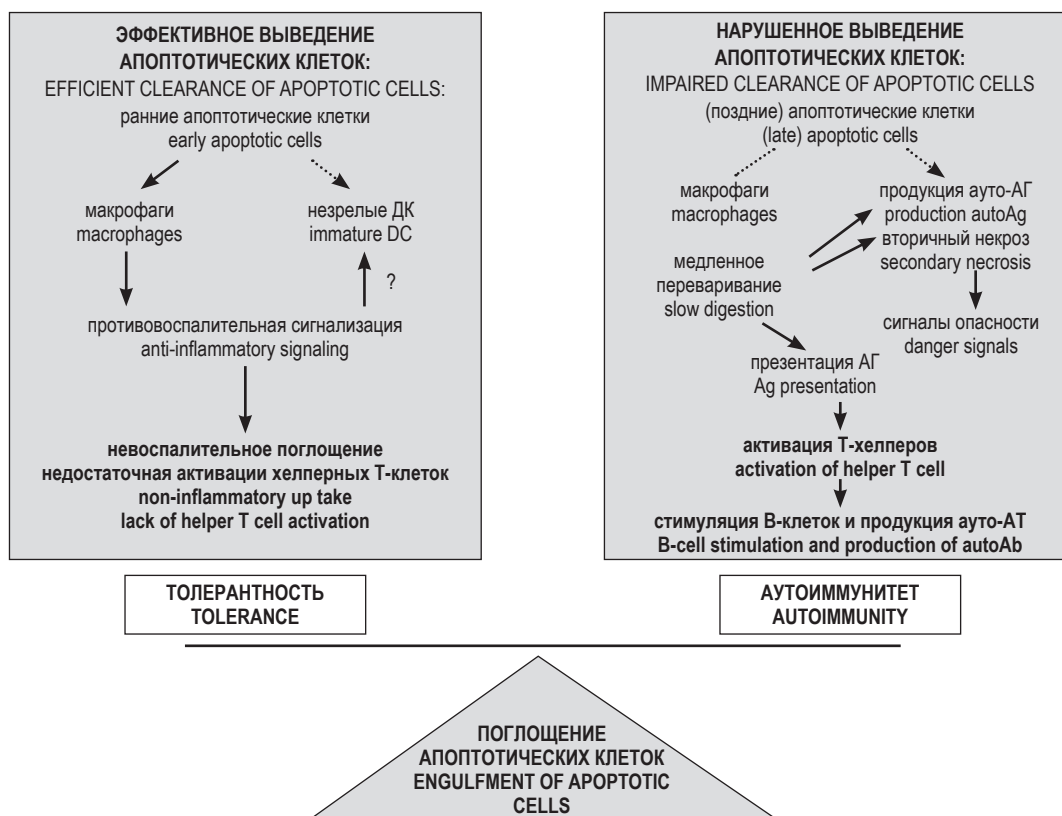


Рисунок 5. Баланс между иммунной толерантностью и аутоиммунитетом при ИВРЗ

Примечание. Слева представлена схема физиологического апоптоза, не приводящего к активации Т-клеточного иммунитета и воспалению; справа представлена схема измененного апоптоза при ИВРЗ, приводящая к аутоактивации Т- и В-клеточного иммунитета и развитию аутоиммунного воспаления.

Сокращения: DC – дендритная клетка, Ag – антиген, Ab – антитело, по материалам [110].

Figure 5. Balance between immune tolerance and autoimmunity in IVRD

Note. On the left is a scheme of physiological apoptosis, which does not lead to activation of T cell immunity and inflammation; on the right is a scheme of altered apoptosis in IVR, which leads to autoactivation of T and B cell immunity and the development of autoimmune inflammation. Abbreviations: DC, dendritic cell; Ag, antigen; Ab, antibody, based on materials [110].

В соответствии с этими данными, у пациентов с СКВ наблюдался повышенный апоптоз моноцитов/макрофагов, что способствовало образованию аутоантител и повреждению тканей [45].

Аналогичным образом, повышение уровня апоптотических нейтрофилов и Мф было обнаружено у пациентов с СКВ и этот уровень положительно коррелировал с активностью заболевания [153].

Таким образом, у пациентов с СКВ наблюдается высокий уровень апоптотических клеток, который, по крайней мере частично, объясняется массивным апоптозом в клетках тканей или в фагоцитах. Апоптотические клетки должны быть эффективно поглощены фагоцитами, чтобы предотвратить высвобождение клеточных компонентов, которые могут активировать иммунную систему. Нарушение элиминации апоптотических клеток при СКВ смещает баланс иммунной системы. Увеличение уровня апоптотических

нейтрофилов отмечалось в условиях дефектного фагоцитоза этого материала, что является существенным сигналом аутоиммунизации при этом заболевании.

Недавние исследования показали роль опсонов в формировании иммуногенных и толерогенных характеристик ауто-АГ при ИВРЗ. Для быстрого распознавания и элиминации апоптотических клеток при ИВРЗ необходима опсонизация объекта фагоцитоза. В качестве опсонов при этом выступает С-реактивный белок (СРБ), а также компонент системы комплемента С1q. СРБ не только способствует классическому пути активации комплемента, но также усиливает опсонизацию и фагоцитоз апоптотических клеток макрофагами [63].

У пациентов с СКВ наблюдался повышенный уровень аутоантител против СРБ, находящийся в прямой зависимости с активностью заболевания и поражением почек [76].

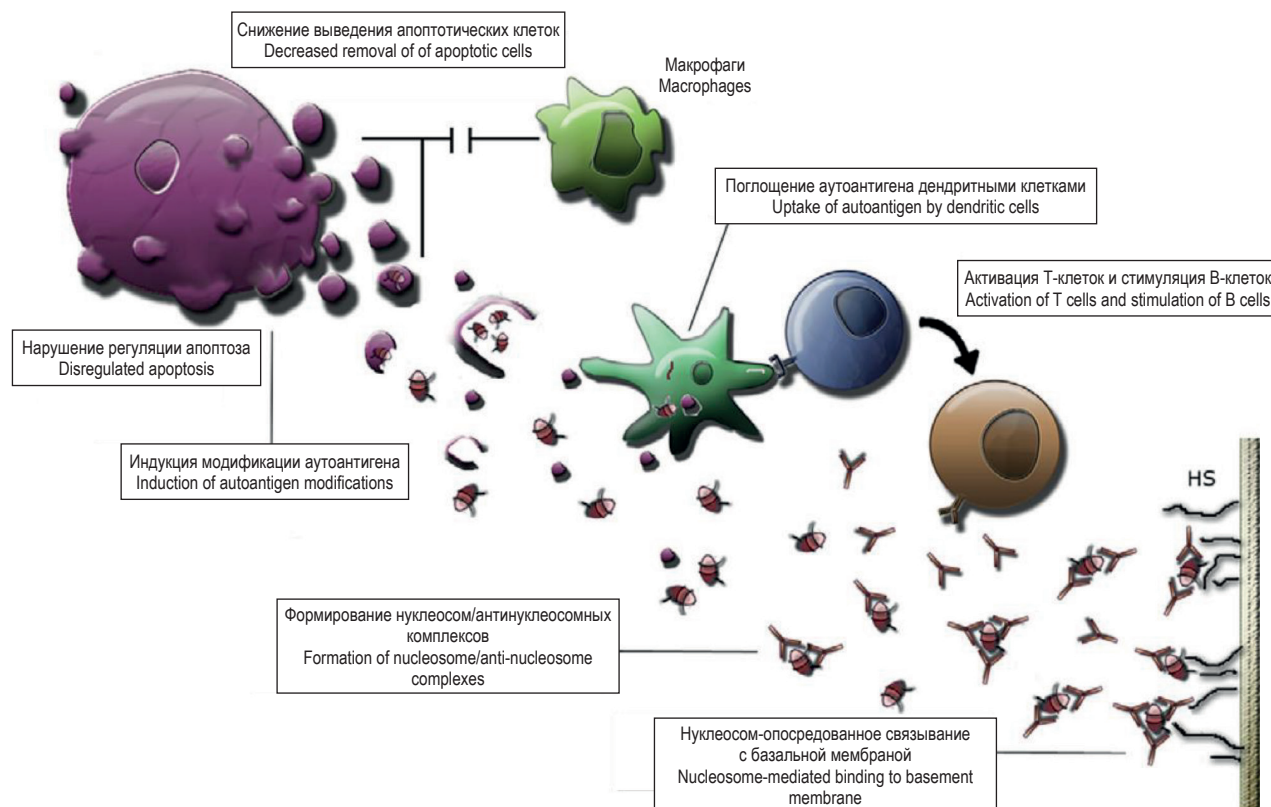


Рисунок 6. Схема патогенетического участия апоптоза при волчаночном нефрите, пояснения в тексте, по материалам [135]

Figure 6. Scheme of pathogenetic involvement of apoptosis in lupus nephritis, explanations in the text, based on materials [135]

Такая же картина складывается и в отношении C1q компонента комплемента. У пациентов с СКВ наблюдалось повышение антител против C1q, которые положительно коррелировали с нефритом, гипокомплементемией, антителами против dsDNA и циркулирующими иммунными комплексами [169].

Ниже представлена схема (рис. 6), демонстрирующая принципы патогенетического участия апоптоза при ИВРЗ на примере СКВ.

Согласно этой схеме, нерегулируемый апоптоз и/или недостаточное удаление апоптотических клеток приводит к высвобождению модифицированного клеточного материала в кровотоке. Это приводит к активации АПК (макрофаги, дендритные клетки), аутоиммунному ответу, опосредованному Т- и В-клетками, образованию цитотоксических патогенных иммунных комплексов, способствующих возникновению гломерулонефрита.

Значение апоптоза изучено при РА. Показано, что Т-лимфоциты и В-лимфоциты в составе КВИ при РА устойчивы к Fas-индуцированному апоптозу и демонстрируют высокую экспрессию антиапоптотических молекул семейства Bcl. Эти клетки защищены от апоптоза фактором-1α

(SDF-1α), продуцирующимся синовиоцитами и лигандом рецептора хемокина (CXCR)4. Резистентность к апоптозу продемонстрировали и синовиальные фибробласты. Полагают, что такие изменения апоптоза при РА способствуют накоплению воспалительных клеток в составе КВИ в синовиальной оболочке, а также их гиперплазии и инвазивному росту [15, 29].

С использованием проточной цитометрии, показано, что апоптотические гранулоциты были статистически значимо выше у пациентов с РА по сравнению с контрольной группой. Причем это повышение сочеталось с увеличением уровня некротических гранулоцитов и моноцитов. На основании полученных данных авторы делают вывод о том, что нейтрофилы и моноциты при РА подвергаются апоптотическим модификациям, которые сопровождаются вторичным некрозом (см. выше) этих клеток при РА. Подобные сдвиги могут привести к накоплению ауто-АГ, что приводит к прогрессированию РА [95].

Получены интересные результаты, касающиеся патогенетического участия апоптоза при синдроме Шегрена. Показано, что при этом заболевании в биоптатах слюнных желез повышена экспрессия связанного с лизосомами мембран-

ного белка 3, обозначаемого как LAMP3/CD208/DC-LAMP. Экспрессия LAMP3 индуцирует дисфункцию эпителиальных клеток, приводящую к их апоптозу. Причем эта дисфункция сопровождалась статистически значимым увеличением сывороточных аутоантител, таких как анти-Ro/SSA, анти-La/SSB и антиядерных антител. Соответственно, делается вывод о том, что при болезни Шегрена LAMP3 инициирует апоптоз, а также независимый путь внеклеточного высвобождения известных ауто-АГ, приводящий к образованию аутоантител, связанных с этим заболеванием. Кроме этого, определяется перекрест молекулярных сигнальных путей между LAMP3-индуцированным апоптозом и аутофагией при синдроме Шегрена [175].

Патогенетическое значение апоптоза изучено и при полимиозитах. В частности, показано, что при этих заболеваниях в присутствии IFN I типа апоптотические миоциты вызывают выработку ауто-АТ, лимфоцитарную инфильтрацию *in situ* и непрерывные циклы повреждения и регенерации мышц. Нарушение апоптоза миоцитов при аутоиммунных полимиозитах, недостаточная элиминация апоптотического материала Мф вызывает «неадаптивное ремоделирование» мышц с накоплением коллагена и жира и аутоиммунного ответа на ауто-АГ мышечной ткани [166].

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о неоспоримом патогенетическом значении апоптоза в КВИ при ИВРЗ. Следует обратить внимание, прежде всего, на противовоспалительные свойства апоптоза, а также на то, что апоптоз является формой гибели клеток, индуцирующей иммунную толерантность в том числе и к ауто-АГ. Накоплен большой материал, свидетельствующий о том, что регуляция указанных аспектов апоптоза, в частности сигнальных путей, является одним из перспективных направлений молекулярной иммунотропной терапии ИВРЗ.

Некроптоз и ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны (DAMP)

Некроз, относящийся к основным категориям патоморфологии, является формой неконтролируемой гибели клеток, завершающейся аутолизом последних. Некроз является следствием воздействия экстремальных факторов, к числу которых, в частности, относятся инфекции, ишемия тканей, ионизирующая радиация, тепло, осмотический шок, механический стресс, замораживание-оттаивание и др. Отметим, что воздействие указанных факторов индуцируют случайную, неконтролируемую гибель клеток. Стадии некроза, а именно: паранекроз, некробиоз и аутолиз, отражают последовательность внутриклеточных процессов, приводящих, в конечном итоге, к на-

буханию органелл, увеличению объема клеток, разрушению плазмалеммы, а также клеточного ядра (кариопикноз, кариорексис, кариолизис). Из основных морфологических вариантов некроза (коликвационный, коагуляционный, казеозный и фибриноидный), преобладающим при ИВРЗ, является фибриноидный некроз клеток и тканей. Потеря целостности мембраны и высвобождение внутриклеточного содержимого придают некротическим клеткам способность вызывать неинфекционную воспалительную реакцию [22].

Детальное изучение молекулярных внутриклеточных процессов при некрозе показало, что в клетках существует множество сигнальных каскадов с участием адапторных молекул и последующей активацией транскрипционных факторов, напоминающих программу гибели клеток, которые дают основания для выделения определенных форм регулируемого некроза. К их числу относится наиболее часто упоминаемый некроптоз. Некроптоз — это генетически контролируемый процесс гибели клеток, характеризующийся грануляцией цитоплазмы, набуханием органелл, разрывом плазмалеммы. Эти признаки присущи и другим формам гибели клеток (этоз, нетоз, пиронекроз, пироптоз). Однако идентификация сигнальных путей, адапторных молекул и активации транскрипционных факторов, свойственных только некроптозу, позволило выделить этот процесс в качестве автономной формы клеточной гибели. При некроптозе отсутствуют такие маркеры апоптоза, как активация каспаз и конденсация хроматина и такие маркеры пироптоза, как активация провоспалительной каспазы-1. Некроптоз широко встречается при ишемических травмах головного мозга, при инфаркте миокарда, при гибели клеток, индуцированной химиотерапией опухолей, при окислительном клеточном стрессе.

Некроптоз представлен и в клетках воспалительного инфильтрата при ИВРЗ. Приятно отметить, что впервые понятие некроптоза ввел в научный обиход наш соотечественник А. Дегтярев [44].

Приведем примеры некоторых признаков некроптоза (рис. 7). В работе Berghe T. V. и соавт. [21] была использована клеточная линия мышечной фибросаркомы L929sAhFas, чувствительная к индукторам некроптоза — TNF и H₂O₂. В данном эксперименте основным фактором некроптотического поражения клеток была генерация активных форм кислорода и эта генерация совпадала с началом появления типичных признаков некроптоза. Методом фазово-контрастной и флуоресцентной микроскопии авторы показали, что оба стимула вызывали округление клетки, за ко-

торым следовало набухание клеток и грануляция цитоплазмы. Затем наблюдался разрыв плазматической мембраны, которая приобретала раздутый «баллонный» вид. Эти процессы сопровождались повреждением митохондрий и лизосом. Как при TNF-, так и при H_2O_2 -индуцированной гибели клеток активность каспаз не обнаруживалась, в отличие от Fas-индуцированного апоптоза.

Как указывалось выше, некроптоз встречается и при ИВРЗ. Воспаление при ИВРЗ является преимущественно продуктивным, сопровождающимся появлением эндогенных сигналов опасности, называемых «ассоциированные с повреждением молекулярные паттерны», или DAMP. Отличительной особенностью DAMP является их способность взаимодействовать с рецепторами врожденного иммунитета (TLR2, TLR4, TLR7, TLR9), экспрессирующихся на фолликулярных и плазматическоидных дендритных клетках (пДК и фДК) и активировать их [155].

DAMP способны взаимодействовать и с другими PRR-рецепторами на клетках в составе КВИ (NRL, RLR), тем самым принимая активное участие в неинфекционном воспалении [36].

В DAMP включают, в случаях неконтролируемого некроза, HMGB1, IL-1 α , мочевую кислоту, фрагменты ДНК, белки теплового шока (HSP70, HSP90), содержимое митохондрий, АТФ и др. [54, 87].

Номенклатура DAMP весьма противоречива. В целом эти молекулы, в физиологических условиях локализующиеся внутриклеточно, могут быть разделены на две группы. Во-первых, это молекулы, которые выполняют невоспалительные функции в клетках и приобретают иммуномодулирующие свойства при их высвобождении во время повреждения клеток или клеточного стресса, например, такие как HMGB1 и АТФ. HMGB1 — это высокомолекулярный, негистоновый, ядерный групповой белок-1, освобождающийся из клеток, подвергшихся инфекционному повреждению, некрозу, некробиозу, клеточному стрессу. И во-вторых, это алармины, т. е. молекулы, которые обладают цитокиноподобными функциями, которые высвобождаются при лизисе клеток и способствуют воспалительной реакции. К ним можно отнести, в частности, IL-1 α и IL-33 [142, 158].

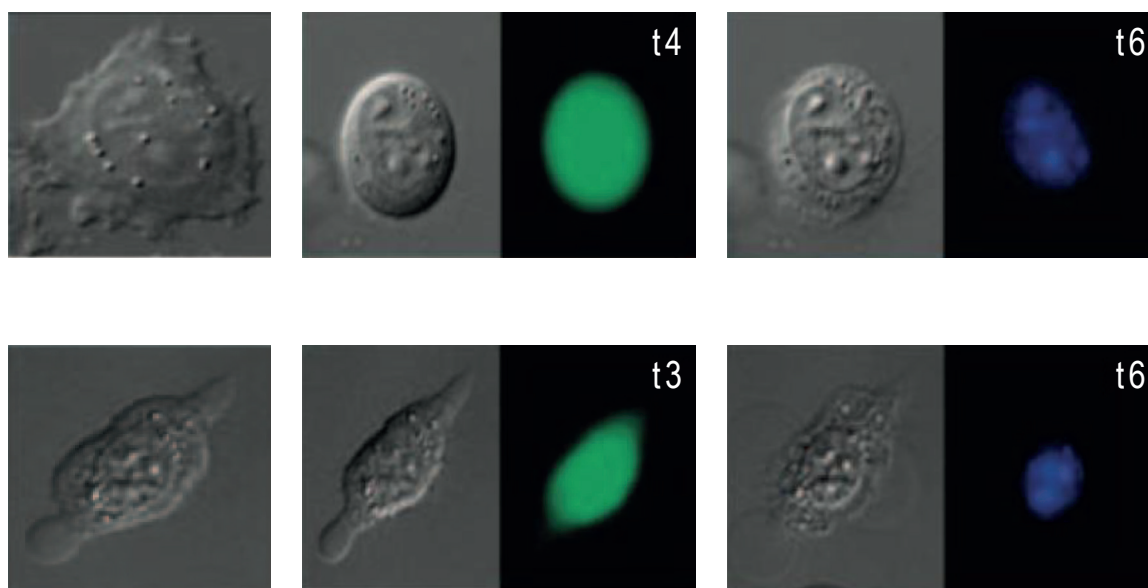


Рисунок 7. Картина некроптоза на клеточной линии мышинной фибросаркомы L929sAhFas, полученная методами фазово-контрастной и флуоресцентной микроскопии

Примечание. Верхний ряд – TNF-индуцированный некроптоз, нижний ряд – H_2O_2 -индуцированный некроптоз. И том, и другом случаях наблюдается округление и набухание клеток, грануляция цитоплазмы с раздутым «баллонным» видом. Зеленая флуоресценция – свидетельство продукции активных форм O_2 , синяя флуоресценция – свидетельство разрывов плазматической мембраны, сопровождающиеся нарушением ее проницаемости, по материалам [21].

Figure 7. Picture of necroptosis on the cell line of mouse fibrosarcoma L929sAhFas, obtained by phase contrast and fluorescence microscopy

Note. The upper row is TNF-induced necroptosis, the lower row is H_2O_2 -induced necroptosis. In both cases, there is rounding and swelling of cells, granulation of the cytoplasm with an inflated "balloon" appearance. Green fluorescence is evidence of the production of active forms of O_2 , blue fluorescence is evidence of ruptures of the plasma membrane, accompanied by a violation of its permeability, according to materials [21].

DAMP высвобождаются и при дезорганизации рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани при ИВРЗ, приобретая при этом иммуногенные свойства.

Необходимо иметь в виду, что рецепторы врожденного иммунитета (TLR, NLR, RLR), экспрессирующиеся на дендритных клетках (ДК) и на клетках макрофагально-моноцитарного ряда в составе КВИ при ИВРЗ способны взаимодействовать как с DAMP, так и с молекулярными паттернами, связанными с инфекционными патогенами — PAMP. Факт весьма примечательный, указывающий на сходство между реакциями, вызванными инфекционными патогенами, и воспалительными реакциями на стресс, повреждение или смерть клеток [78].

Подобный взаимный перекрест сигнализации DAMP и PAMP является важным патогенетическим звеном при ИВРЗ. Известно, что инфекция, прежде всего вирусам, отводится роль триггеров ИВРЗ. В процессе эволюции взаимодействие вирусов и эукариотических клеток привело к отбору генов, которые способствуют гибели инфицированных клеток, в том числе путем некроптоза и апоптоза. Таким образом блокируется размножение и распространение вирусов в инфицированной клетке и в организме в целом. Однако в процессе той же эволюции выработались адаптивные вирусные механизмы, позволяющие им предотвратить гибель инфицированных клеток хозяина, тем самым позволяя вирусам неограниченно реплицироваться. К таким механизмам относят формирование специфических ингибиторов каспазы-8, таких как модификатор цитокинового ответа А (CrmA), вирусный ингибитор активации каспазы (v-ICA) и вирусные FLICE-подобные ингибирующие белки (FLIPs) [131].

Ингибирование активности каспазы-8 предотвращает инициирование апоптоза и в то же время является ключевым условием индукции некроптоза. Это послужило поводом для заключения, что в данной ситуации некроптоз выполняет защитные функции «двери-ловушки», которая открывается, когда каспаза-8 ингибируется и на этом фоне запускается процесс некроптоза с последующей гибелью клеток хозяина, а также вирусов, находящихся в ней.

Показано, что вирусная инфекция может сопровождаться выделением таких DAMP, как Hsp70 и HMGB1, которые прямо взаимодействуют с молекулой — передатчиком сигналов CD24 и лектином Siglec-G/10 (ось CD24-SiglecG/10), экспрессирующихся на клетках макрофагально-моноцитарного ряда и дендритных клетках в составе КВИ при ИВРЗ. И таким образом формируется взаимный перекрест DAMP и PAMP

определяющий, будут ли TLR и/или NLR, связанные с CD24 и экспрессирующиеся на вышеуказанных клетках, вызывать воспаление при воздействии DAMP [35].

В конце 80-х годов прошлого столетия было начато изучение так называемых рецепторно-взаимодействующих серин/треониновых киназ 1 и 3 (RIPK1 и RIPK3, соответственно), которые являются ключевыми киназами при некроптозе клеток, индуцированном TNF [100]. Затем был выявлен целый ряд индукторов некроптоза (более десятка) и молекулярные пути реализации этого процесса. К их числу относятся члены семейства фактора некроза опухоли (TNF), TLR-рецепторов (TLR3, TLR4) производные ДНК и РНК, RLR-рецепторов (RIG-1) [37, 197].

Таким образом, были представлены доказательства того, что есть формы некроза, которые контролируются генетически, зависят от активности RIPK1 и/или RIPK3, не зависят от активности каспаз, что и привело к появлению термина «некроптоз» для определения регулируемого некроза [61].

Характерной чертой некроптоза является то, что активность киназ RIPK1 и/или RIPK3 может ингибироваться молекулой, называемой некростатином 1 (NEC 1) [42].

В случае, когда некроптоз индуцируется провоспалительным цитокином TNF, задействованные сигнальные пути приводят к ингибированию каспазы-8 с последующим ауто- и трансфосфорилированием киназ RIPK1 и RIPK3, а также MLKL. Этот процесс, в конечном счете, приводит к их агрегации в микрофиламентоподобные (амилоидоподобные) комплексы, которые называются некросомами. Некросомы являются маркерами некроптоза, и их наличие свидетельствует об усилении этого процесса [105].

Некрсомы по своей молекулярной природе разнородны и, в зависимости от молекулярного состава, выделяют следующие их производные — это «комплекс I», содержащий молекулы TRADD, TRAF2/5, RIPK1, IAPs и LUBAC. Этот комплекс, после убиквитинирования, инициирует активацию транскрипционного фактора NF-κB, и остается связанным с рецептором TNFR1. В случае, когда рецептор TNFR1 подвергается эндосомальной интернализации, этот процесс сопровождается высвобождением рецептор-ассоциированного комплекса из TNFR1 и образованию предшественника каспазы-8 — прокаспазы-8, что приводит к образованию «комплекса II». Прокаспаза-8, подвергаясь процессу ограниченного протеолиза, трансформируется в активную каспазу-8. Комплекс II бывает двух типов — это комплекс IIa, который может вызвать апоптоз, за счет активации каспазы-8, и комплекс IIb, также назы-

ваемый некротомой, инициирующий некроптоз вследствие ингибирования каспазы-8 и фосфорилирования киназ RIPK1 и RIPK3 [145, 197].

Необходимо упомянуть еще о двух белках, взаимодействующих и регулирующих активность киназ RIPK1 и RIPK3. Это смешанная киназа, подобная белку (MLKL), и митохондриальная фосфатаза 5 (PGAM5). Фосфорилирование MLKL наделяет эту молекулу способностью перемещаться к плазматической мембране и нарушать ее целостность [199].

Таким образом, ключевыми молекулярными событиями индукции некроптоза является

индукция процессов фосфорилирования киназ RIPK1, RIPK3 и MLKL и негативная регуляция активности каспазы-8. Однако уникального биохимического маркера некроптоза не существует.

Разумеется, описанные молекулярные события являются сжатой картиной детально изученных молекулярных и межмолекулярных процессов, имеющих место в КВИ при ИВРЗ. Эта картина представлена на рисунке 8. Она отражает положение дел в этой области на период десятих-двадцатых годов нашего столетия. Исследования в этой области продолжаются.

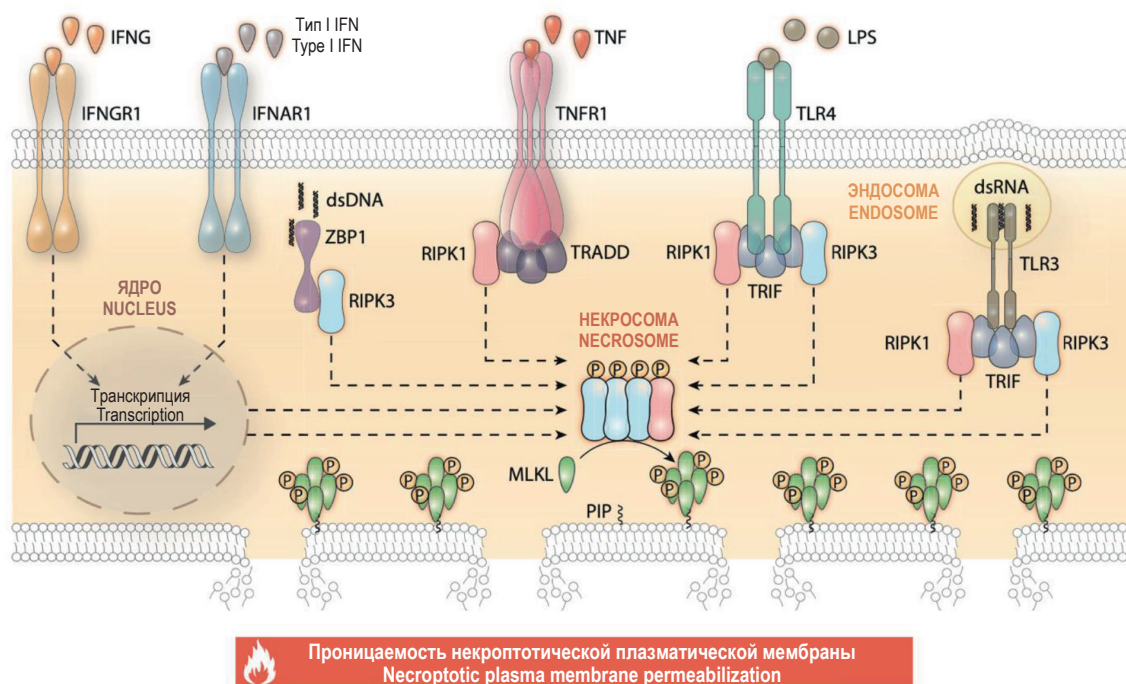


Рисунок 8. Молекулярные механизмы некроптоза

Примечание. Некроптоз критически зависит от взаимодействующей с TLR-, TNF-, IFN-рецепторами серин-треониновой протеинкиназы-1 и -3 (RIPK1 и RIPK3). Для некроптоза также важно фосфорилирование киназы смешанного происхождения (MLKL), приводящего к олигомеризации MLKL, транслокации этой молекулы во внутреннюю часть плазматической мембраны, нарушению ее целостности и гибели клеток. Образование некротомы, содержащей RIPK3 и MLKL, которая ускоряет некроптоз, может быть вызвано внеклеточными сигналами (например, связывание с рецептором смерти TNFR1), а также внутриклеточными сигналами (такими как присутствие вирусных нуклеиновых кислот) и регулируется сложной сетью функциональных белок-белковых взаимодействий.

Сокращения: dsDNA – двухцепочечная ДНК; dsRNA – двухцепочечная РНК; IFN – интерферон; IFNAR1 – рецептор интерферона (α и β); IFNG – γ -интерферон; IFNGR1 – γ -рецептор интерферона; LPS – липополисахарид; P – фосфат; PIP – фосфатидилинозитол фосфат; TLR – Toll-подобный рецептор; TNF – фактор некроза опухоли; TNFR1 – рецептор 1 к TNF; TRIF – молекула-адаптер Toll-подобного рецептора 1; ZBP1 – Z-ДНК-связывающий белок-1; по материалам [60].

Figure 8. Molecular mechanisms of necroptosis

Note. Necroptosis critically depends on serine threonine protein kinase 1 and 3 interacting with TLR, TNF, and IFN receptors (RIPK1 and RIPK3). Phosphorylation of mixed-origin kinase (MLL) is also important for necroptosis, leading to oligomerization of MLKL, translocation of this molecule into the inner part of the plasma membrane, violation of its integrity and cell death. The formation of a necrosome containing RIPK3 and MLKL, which accelerates necroptosis, can be caused by extracellular signals (for example, binding to the TNFR1 death receptor), as well as intracellular signals (such as the presence of viral nucleic acids) and is regulated by a complex network of functional protein-protein interactions.

Abbreviations: dsDNA, double-stranded DNA; dsRNA, double-stranded RNA; IFN, interferon; IFNAR1, interferon receptor (α and β); IFNG, γ -interferon; IFNGR1, γ -interferon receptor; LPS, lipopolysaccharide; P, phosphate; PIP, phosphatidylinositol phosphate; TLR, Toll-like receptor; TNF, tumor necrosis factor; TNFR1, TNF receptor 1; TRIF, adapter molecule of Toll-like receptor 1; ZBP1, Z-DNA-binding protein 1; based on materials [60].

Некроптоз присутствует при многих заболеваниях внутренних органов и систем, в том числе и аутоиммунных. Знание ключевых этапов этих процессов при некроптозе определяет стратегию разработки препаратов молекулярной таргетной терапии, в частности при ИВРЗ [88].

Важно, что активность киназы RIPK1 регулирует высвобождение цитокинов и аларминов в некроптотических клетках, в частности провоспалительного цитокина TNF α [38].

Также было показано, что при потере целостности плазмолеммы, некроптотический материал, находящийся во внеклеточной жидкости, подвергается процессу макропиноцитоза АПК [97]. Факт важный, поскольку при ИВРЗ процессинг некроптотических DAMP в АПК способствует презентации ауто-АГ в составе аллелей МНС I и II классов и индукции аутоиммунного ответа. Однако специфических DAMP, свойственных только некроптозу, не выявлено. Важно, что некроптоз, обусловленный RIPK3, способствует элиминации активированных Т-лимфоцитов, которые подверглись клональной экспансии в ответ на стимуляцию (инфекции, ауто-АГ), что имеет важное значение для поддержания гомеостаза Т-клеток, поскольку его нарушение может привести к иммунодефициту или аутоиммунитету.

К механизмам контроля некроптоза причисляют и аутофагию. Показано, что пролиферация Т-лимфоцитов нарушается в отсутствие генов аутофагии ATG5, ATG7, ATG3 или Беклина-1. Было высказано предположение, что киназа RIPK1 является связующим звеном между гибелью некроптотических клеток и аутофагией в активированных Т-клетках [69].

Показано, что некроптоз может быть вовлечен в патогенез и развитие СКВ, поскольку маркеры некроптоза определялись в В-клетках у пациентов с СКВ [56].

Открытие того, что конститутивная передача сигналов IFN γ способствует устойчивой экспрессии MLKL (смешанная киназа, подобная белку, регулирующая активность киназ RIPK1 и RIPK3, см. выше) и инициации некроптоза, подтверждает взгляд о том, что повышенная передача сигналов IFN γ при СКВ усиливает некроптоз, вызывая повреждение тканей [162].

Как упоминалось выше, некроптоз может способствовать воспалительным реакциям за счет высвобождения DAMP. Эти результаты могут дать определенные доказательства роли некроптоза в патогенезе и развитии СКВ. Кроме этого, следующие результаты указывают на важное патогенетическое значение провоспалительных свойств некроптоза при ИВРЗ. Показано, что некроптотическая сигнализация может индуцировать активацию воспалительной системы NLRP3

и, взаимосвязанный с этой системой — пироптоз, что еще больше усиливает воспалительную реакцию. NLRP3 (или криопирин) — это цитозольный NLR-рецептор, взаимодействующий с DAMP и/или PAMP, вовлеченный в активацию каспаз-1 и -5 с последующим образованием активных форм провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18. NLRP3 экспрессируется клетками макрофагально-моноцитарного ряда и является основным компонентом воспалительных NLRP3-инфламмасом, формирующихся в указанных клетках в условиях продуктивного воспаления при ИВРЗ. Киназа RIPK3, необходимая для некроптоза, также способствует формированию воспалительных NLRP3-инфламмасом [101, 192].

Активацию воспалительных NLRP3-инфламмасом аналогичным образом индуцирует и MLKL, что также приводит к высвобождению IL-1 β [67].

К такому же эффекту приводит и высвобождающийся некроптотическими клетками АТФ, который, после связывания с рецептором P2X7, активирует инфламмасому NLRP3 и генерирует зрелый IL-1 β [170].

Митохондрии, высвобождаемые клетками в составе КВИ, подвергающихся некроптозу, индуцированному TNF α , могут быть поглощены макрофагами и дендритными клетками человека, что приводит к секреции вышеуказанных провоспалительных цитокинов макрофагами и индуцировать АГ-презентирующую функцию дендритных клеток [115].

При инфекционном воспалении показано, что интерфероны I типа могут способствовать сборке киназ RIPK1 и RIPK3, вызывая некроптоз макрофагов и высвобождение провоспалительных медиаторов (включая IL-1 α , IL-1 β и IFN γ) [157].

Представленные внутриклеточные молекулярные процессы присутствуют в эктопических лимфоидных структурах (ELS), в ГЗТ-гранулемах, а также в диффузном клеточном инфильтрате при ревматической лихорадке (РЛ), ревматоидном артрите (РА), системной красной волчанке (СКВ), дермато-полимиозите (ПМ).

Изучение экспрессии маркеров некроптоза и пироптоза методом количественной real time-PCR при экспериментальной СКВ показало, что экспрессия MLKL, GPX4 и PARP1 значительно повышалась в селезенке по мере прогрессирования заболевания, а CASP1, RIPK1, RIPK3 и CYPD были выше на ранних стадиях, но значительно снижались на более поздних стадиях. Напротив, в почках экспрессия генов, участвующих в пироптозе, например NLRP3 и CASP1, была значительно увеличена, а TNFR1, RIPK1, RIPK3 (маркеры некроптоза), CIAP1/2 и GPX4 были

значительно снижены по мере прогрессирования волчаночного нефрита. Таким образом была показана органная специфика экспрессии маркеров регулируемого некроза, зависящая также и от стадии заболевания [72].

Резюмируя вышесказанное, можно заключить, что принципиальное патогенетическое значение некроптоза при ИВРЗ заключается в том, что высвобождающиеся при дезорганизации рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани DAMPs, взаимодействуя с NLR-, TNF-, IFN-рецепторами клеток-мишеней активируют (путем фосфорилирования) киназы RIPK1, RIPK3 и MLKL. Транслокация молекулярных комплексов с участием указанных молекул во внутреннюю часть плазматической мембраны, вызывает нарушение ее целостности и гибель клеток, т. е. возникает некроптоз. Эти процессы сопровождаются комплексной воспалительной реакцией *in situ* в паренхиматозных органах, в суставной щели, мышцах, коже, подкожной клетчатке, хрящевой ткани и др.

Пироптоз и аутоиммунное воспаление

Пироптоз (от греческих слов “pyro” — огонь или лихорадка и “ptosis” — падение) — это автономная, регулируемая, генетически запрограммированная форма гибели клеток, являющаяся важным механизмом врожденного иммунитета и принимающая активное патогенетическое участие при ИВРЗ. Автономия пироптоза обусловлена тем, что все внутриклеточные мембранные и молекулярные процессы обусловлены активностью провоспалительной каспазы-1, с последующим лизисом клетки и обязательной секрецией провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18. Т. е. пироптоз является формой гибели клетки в условиях патологии. Необходимо отметить, что каспаза-1 не участвует в родственном пироптозу процессе, а именно — апоптозе. Уникальной особенностью пироптоза является то, что каспаза-1 активируется при непосредственном участии мультисубъединичного, олигомерного цитоплазматического комплекса, отвечающего за активацию воспалительного ответа — инфламасомы. При этом генерация каспазы-1 происходит за счет ограниченного протеолиза предшественника этого фермента — прокаспазы-1.

Эта форма гибели клетки впервые была описана Brennan M.A. и Cookson B.T. в 2000 г., как каспаза-1-зависимая неапоптотическая гибель клеток, индуцируемая макрофагами во время инфекции *Salmonella Typhimurium*. Эти же исследователи ввели термин «пироптоз» [26, 41].

Таким образом пироптоз сочетает в себе характеристики апоптоза (фрагментация ДНК) и некроза (воспаление и продукция цитокинов). Ввиду патогенетической важности процесса

пироптоза, приведем результаты экспериментов первооткрывателей этого процесса, когда впервые была продемонстрирована автономная форма гибели клеток, отличная от апоптоза и некроза, сопровождающаяся выбросом IL-1 β и зависящая от активности каспазы-1.

На рисунке 9 представлены результаты флуоресцентного анализа культуры клеток J774A.1, где впервые был зарегистрирован процесс пироптоза. В работе была использована макрофагоподобная клеточная культура J774A.1. Апоптоз клеток J774A.1 индуцировался грибовым ядом — глиотоксином. Некроз этих же клеток индуцировался путем их инфекции *S. Typhimurium* штамм SL1344. В таком варианте эксперимента и апоптоз, и некроз клеток J774A.1 сопровождался формированием крупных фрагментов ДНК, локализовавшихся в цитоплазме. Мутантный штамм *S. Typhimurium* SL1344, обозначенный как SL1344 prgH, не вызывал некроза клеток линии J774A.1, но в процессе инфицирования клеток J774A.1 этим мутантным штаммом все цитоплазматические события, связанные с собственно внутриклеточным инфекционным процессом протекали в полной мере. Процесс апоптоза клеток линии J774A.1, вызванный глиотоксином, и процесс некроза этих же клеток, вызванный инфицированием *S. Typhimurium* штаммом SL1344 определялся TUNEL-методом, при котором фрагментированная ДНК окрашивалась аннексином V, меченным флуоресцеином изотиоцианатом (FITC). Результат фиксировался по зеленой флуоресценции препаратов клеток J774A.1 в флуоресцентном микроскопе.

На рисунке 9А — это контрольные клетки J774A, обработанные физиологическим раствором. Видно, что флуоресценция отсутствует, вследствие сохранившейся целостности цитоплазматической мембраны;

В — классическая картина глиотоксин-индуцированного апоптоза клеток J774A. Видна четкая флуоресценция фрагментов ДНК;

С и D — картина некроза клеток J774A, инфицированных различными дозами *S. Typhimurium* штамм SL1344, С — меньшей дозой, D — большей дозой. Также видна четкая флуоресценция фрагментов ДНК;

Е и F — картина пироптоза клеток J774A, инфицированных мутантным штаммом *S. Typhimurium* — SL1344 prgH. В этом случае на препаратах клеток J774A флуоресценция не определяется, вследствие того, что при этой инфекции клеточная мембрана повреждается, высвобождается цитоплазматическое содержимое, в том числе и ДНК, и этот процесс является каспаза-1-зависимым.

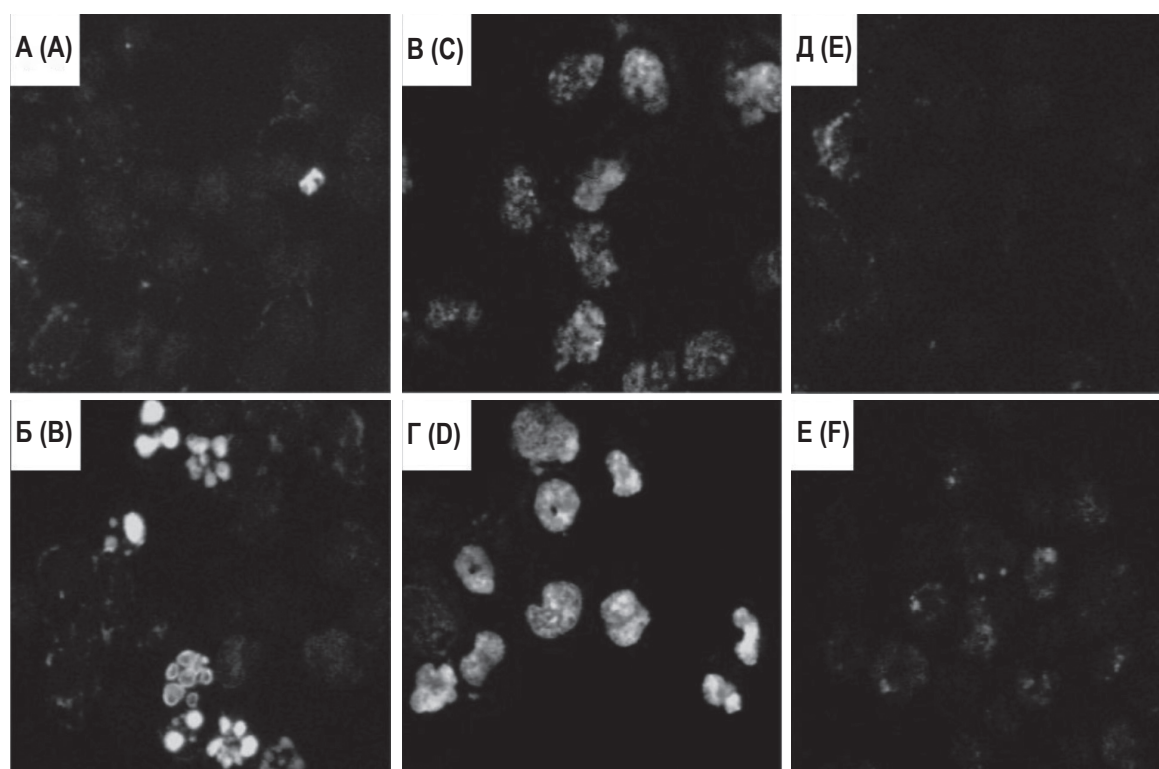


Рисунок 9. Результаты флуоресцентного анализа гибели клеток линии J774A.1 при глиотоксин-индуцированном апоптозе (Б), при инфицировании *S. Typhimurium* штамм SL1344 (В и Г), при инфицировании мутантным штаммом *S. Typhimurium* SL1344 prgH (Д и Е). А – контрольные клетки J774A

Примечание. Пояснения в тексте, по материалам [26].

Figure 9. The results of the fluorescent analysis of cell death of the J774A line.1 with gliotoxin-induced apoptosis (B), with infection with *S. Typhimurium* strain SL1344 (C and D), with infection with mutant *S. Typhimurium* strain SL1344 prgH (E and F). A, control cells J774A

Note. Explanations in the text, based on materials [26].

Так впервые был идентифицирован процесс клеточной гибели, отличный от апоптоза и некроза, зависимый от активности каспазы-1, сопровождающийся выбросом $\text{IL-1}\beta$ и названный этими же авторами пироптозом.

Ранним признаком пироптоза является образование в плазмалемме бочкообразных пор диаметром 10-15 нм. Формирование пор обусловлено белками семейства газдерминов (GSDM), состоящего у человека из 6 членов. Порообразующая способность газдерминов обеспечивается протеолитической активностью провоспалительных каспаз, прежде всего каспазы-1. Эти поры формируют клеточные ионные градиенты и в клетку поступает большое количество ионов Ca^{2+} , происходит повышение осмотического давления, увеличивается приток воды, возникает набухание клеток и, в конечном счете, осмотический лизис и высвобождение внутриклеточных провоспалительных цитокинов. При этом Ca^{2+} также способствует экзоцитозу лизосом и фагоцитированных частиц. Ионы Ca^{2+} обеспечивают

сборку так называемого эндосомального сортировочного комплекса (ESCRT), необходимого для выноса внутриклеточного содержимого во вне клетки при пироптозе, а также для восстановления поврежденной плазмалеммы [57, 179].

Поскольку порообразование является базисным элементом литической гибели клетки при пироптозе, целесообразно привести схему, иллюстрирующую сказанное (рис. 10).

Следующей отличительной особенностью пироптоза является то, что расщепление ДНК носит фрагментированный характер, эти фрагменты состоят из олигонуклеосом, сопровождается заметной ядерной конденсацией и зависит от активности каспазы-1. Если при апоптозе повреждение ДНК обусловлено работой ДНК-азы, то при пироптозе ДНК-аза остается связанной со своим ингибитором – ICAD (Inactive Caspase-Activated DNase), что обуславливает не разрезание, а фрагментацию ДНК.

Активность каспазы-1 приводит к множеству процессов, включающих гибель клеток, моду-

лению продукции воспалительных цитокинов, ограничение репликации патогена, контроль микробной инфекции. Пироптоз наряду с некроптозом служит важным механизмом элиминирования зараженных и измененных клеток, что важно при ИВРЗ. Однако в случаях, когда инфекция принимает генерализованный характер с поражением, в частности, костного мозга, пироптоз встречается в гемопоэтических стволовых клетках всех ростков кроветворения. В результате чего индуцируется картина заболеваний, связанных с нарушениями гемопоэза, цитопениями и иммуносупрессией.

Инициирование пироптоза, как показало более углубленное изучение этого процесса, не ограничивается активностью только каспазы-1. Показано, что пироптотическая гибель Мф, инфицированных грамотрицательными бактериями, такими как *E. coli* и *Citrobacter rodentium*, обусловлена также и активностью каспазы-11. Гуанилат-связывающий белок (GBP) в составе цитоплазматических вакуолей, позволяет проникать бактериальному липополисахариду (LPS) в цитоплазму, где LPS непосредственно связывается с доменом CARD каспазы-11 с последующей олигомеризацией и активацией этого фермента. В таком варианте процесс пироптоза не нуждается в активности каспазы-1. Каспаза-11 уча-

ствует в воспалении, при котором формируется NLRP-3 инфламасома (см. ниже), параллельно стимулируя продукцию каспазы-1-зависимых цитокинов — IL-1 β и IL-18. Такой путь был назван «неканоническим» путем формирования воспалительной NLRP-3 инфламасомы и процесса пироптоза [84]. Рисунок 11 иллюстрирует сказанное.

Пироптоз регистрируется в клетках иммунной системы — CD4⁺T-клетках, В-клетках, макрофагах (Мф), дендритных клетках (ДК), в нейтрофилах, в моноцитах, гепатоцитах, эндотелиоцитах, кератиноцитах, эпителиоцитах, нейронах и других типах клеток. Одна из причин того, что именно в этих клетках индуцируется пироптоз является наличие в них более высоких уровней воспалительных каспаз и прежде всего каспазы-1 [183].

Появились данные о том, что пироптоз является активным участником гибели CD4⁺ клеток в лимфоидной ткани при ВИЧ инфекции, причем одна из причин лихорадки при этой инфекции является гиперпродукция IL-1 β , свойственная пироптозу [49].

Активность каспазы-1 является патогенетическим звеном таких заболеваний как инфаркт миокарда, нейродегенеративные заболевания,

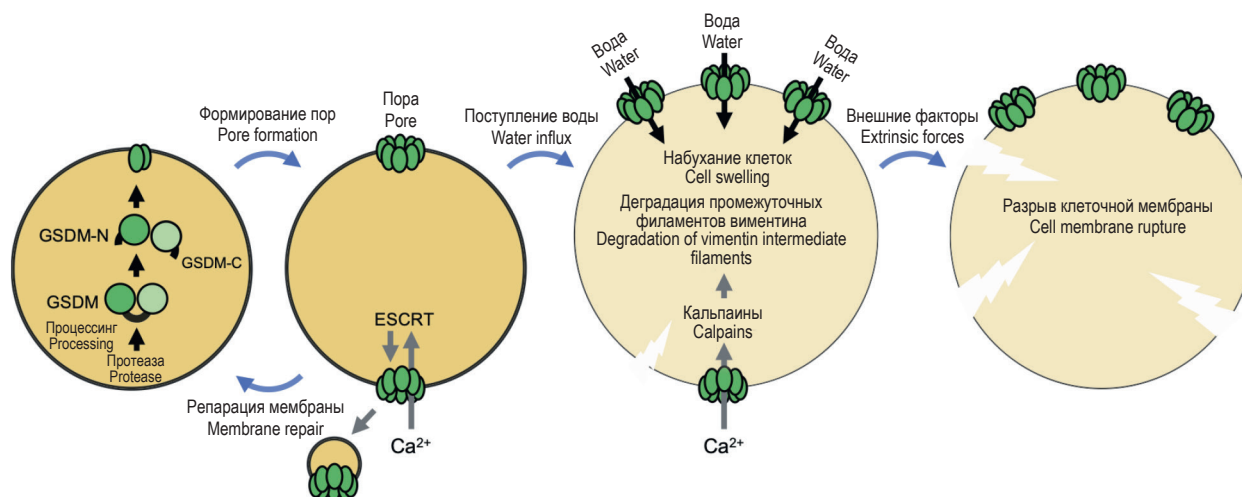


Рисунок 10. Молекулярный механизм порообразования при пироптозе

Примечание. Семейство GSDM находится в клетке в виде неактивных форм. Провоспалительные каспазы (каспазы-1) протеолитически активируют GSDM. N-концевые фрагменты GSDM и кальпаины образуют поры в плазматической мембране. Эти поры вызывают приток воды и ионов Ca²⁺, обуславливающих сборку эндосомального сортировочного комплекса (ESCRT), набухание клеток и, в конечном счете, разрыв плазмалеммы, по материалам [179].

Figure 10. Molecular mechanism of vaporization in nephroptosis

Note. The GSM family is in the cell in the form of inactive forms. Pro-inflammatory caspases (caspase-1) proteolytically activates GSM. The N-terminal fragments of GSDM and calpains form pores in the plasma membrane. These pores cause an influx of water and Ca²⁺ ions, which cause the assembly of the endosomal sorting complex (ESCORT), cell swelling and, ultimately, rupture of the plasmalemma, according to materials [179].

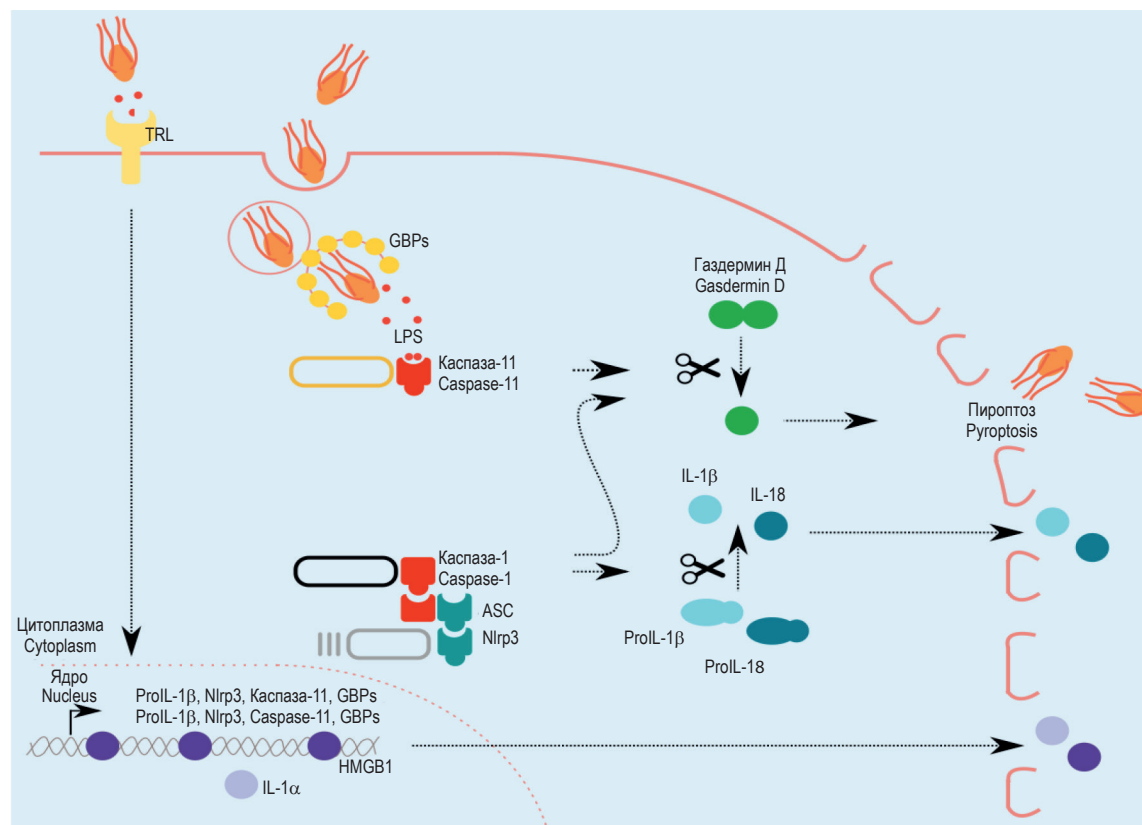


Рисунок 11. Молекулярные механизмы активации NLRP-3 инфламмосомы и индукции пироптоза

Примечание. На первом этапе инициация пироптоза происходит за счет формирования NLRP-3 инфламмосомы и генерации предшественников провоспалительных цитокинов и каспазы-11. На втором этапе собирается активная NLRP-3 инфламмосома и активируется каспаза-1, которая генерирует зрелые формы IL-1β и IL-18, а также продукты протеолиза газдермина D. Газдермин D – это белок газдерминового семейства, являющийся субстратом для каспазы-1, который, после ограниченного протеолиза, трансформируется в эффекторные молекулы, нарушающие целостность плазмолеммы. Каспаза-11 активируется независимо от каспазы-1 и, после взаимодействия с внутриклеточными бактериальными ЛПС, способствует пироптозу через протеолиз газдермина D. Пироптоз характеризуется быстрым разрывом плазматической мембраны, что приводит к высвобождению внутриклеточных патогенов, провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-18 и аларминов HMGB1 и IL-1α, по материалам [183].

Figure 11. Molecular mechanisms of NLRP3 inflammasome activation and pyroptosis induction

Note. At the first stage, the initiation of apoptosis occurs due to the formation of NLRP3 inflammasome and generation of precursors of proinflammatory cytokines and caspase-11. At the second stage, an active NLRP-3 inflammasome is assembled and caspase-1 is activated, which generates mature forms of IL-1β and IL-18, as well as products of proteolysis of gasdermin D. Gasdermine D is a protein of the gasdermine family, which is a substrate for caspase-1, which, after limited proteolysis, is transformed into effector molecules that violate the integrity of the plasmolemma.

Caspase-11 is activated independently of caspase-1 and, after interaction with intracellular bacterial LPS, promotes pyroptosis through proteolysis of gasdermine D. Pyroptosis is characterized by rapid rupture of the plasma membrane, which leads to the release of intracellular pathogens, proinflammatory cytokines IL-1β and IL-18 and alarmins HMGB1 and IL-1α, according to materials [183].

воспалительные заболевания кишечника, эндотоксический шок [194].

Пироптоз и высвобождение DAMP

Пироптоз индуцируется внутриклеточными и внеклеточными сигналами «опасности», генерируемых вторгающимися патогенными микроорганизмами или хозяином в ответ на повреждение клеток и тканей, что имеет место при ИВРЗ. Или, иными словами, PAMP и DAMP [119].

Сенсорами подобных сигналов являются две группы PRR-рецепторов, а именно – мембранные TLR-рецепторы (для внеклеточных сигналов) и цитоплазматические NLR-рецепторы (для внутриклеточных сигналов). В случае связывания внутриклеточных патогенов (PAMP) или продуктов дезорганизации внутриклеточного содержимого (DAMP) с NLR-рецепторами начинается сборка указанного выше мультибелкового, олигомерного цитоплазматического

комплекса — инфламмасомы. В инфламмасомах происходит активации каспазы-1, которая необходима для образования и выделения провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-18. IL-18 является продуктом протеолиза IL-1 β , в результате чего эта молекула преобразуется в гликопротеин с молекулярной массой 18 кДа, определяемый как IL-18 и имеющий практически те же свойства, что и IL-1 β .

Инфламмасомы, участвующие в пироптозе, также имеют уникальную особенность, а именно — наличие домена привлечения и активации каспаз — CARD-домена. Посредством CARD-домена инфламмазома связывается с несколькими молекулами прокаспазы-1 и, как следствие ограниченного протеолиза, формируются две молекулы (p10 и p20), которые, объединившись, образуют активную каспазу-1. Активная каспаза-1 превращает про-IL-1 β и про-IL-18 в активные формы этих молекул. Эти цитокины принимают активное участие в патогенезе ИБПЗ. IL-1 β является пирогенным цитокином, который, после взаимодействия со своим рецептором 1-го типа (IL-1R1), мобилизует и активирует клетки иммунной системы. Эта активация приобретает черты аутоиммунного ответа на продукты дезорганизации рыхлой волокнистой соединительной ткани при ИБПЗ. Внеклеточный IL-18, также после взаимодействия со своим рецептором (IL-18R), стимулирует дифференцировку CD4⁺ клеток в направлении Th1, и этот процесс является ведущим при формировании ГЗТ-гранулем при ИБПЗ [89].

Таким образом, пироптоз клеток в составе КВИ при ИБПЗ является механизмом, способствующим пассивному высвобождению этих крайне активных провоспалительных цитокинов.

В контексте ИБПЗ необходимо подчеркнуть, что из пироптотических пор во внеклеточную среду поступают DAMP, имеющие ауто-антигенные характеристики и индуцирующие аутоиммунный ответ. На рисунке 12 представлена схема, иллюстрирующая выброс во внеклеточную среду таких патогенетически важных при ИБПЗ DAMP, как АТФ, HMGB1, IL-1 α и адаптерного митохондриального белка ASC.

Механизм пироптоза, как говорилось выше, является литическим, что приводит к выбросу дополнительных воспалительных факторов, из которых наибольший интерес при ИБПЗ представляют факторы, относящиеся к DAMP. Речь идет, в частности, о группе ядерных белков с высокой подвижностью (HMGB1), группе белков S100 (24 членов группы с различными внутри- и внеклеточными функциями) и IL-1 α . Отметим, что в физиологических условиях эти белки являются факторами внутриклеточного гомеостаза.

При ИБПЗ пироптоз клеток в составе КВИ придает этим белкам свойства DAMP, или аларминов [98].

При пироптозе наибольшее значение имеет инфламмазома, сформированная при участии NLR-рецепторов (Nod1 и Nod2), LRR-домена (обогащенный лейцином повторы), NBD-домена (нуклеотид-связывающий домен олигомеризации) и PYD-домена (пириновый домен). Эти инфламмасомы носят название NLRP-1, NLRP-3, NLRP-6, NLRP-7, NLRP-12 инфламмасом. Наиболее хорошо изучена инфламмазома NLRP-3. С учетом важной роли этой инфламмасомы в воспалении, есть даже вариант этого процесса с названием «NLRP-3 воспаление». Взаимодействие каспазы-1 и NLRP-3 инфламмасомы происходит при помощи адаптерного белка ASC, который и содержит в себе упомянутый выше домен рекрутирования каспазы — CARD-домен. Это происходит потому, что активировать прокаспазу-1 NLRP3 может только в присутствии молекулы-адаптера ASC [8].

NLRP-3 инфламмазома реагирует на множество стимулов, включая токсины, образующие мембранные поры, внеклеточный АТФ (из митохондрий), вирусные ДНК, РНК, ультрафиолетовое облучение и, что особенно важно, ауто-DAMP, а именно — ДНК, РНК, гиалуроновую кислоту, АТФ и др. аутологичных клеток, подвергшихся пироптозу, некроптозу, аутофагии и апоптозу в КВИ при ИБПЗ [138, 159].

NLRP-3 инфламмазома обладает многосторонними патофизиологическими свойствами. В частности, активность инфламмасомы NLRP3 и каспазы-1 непосредственно связана с выраженностью симптомов таких заболеваний, как сахарный диабет 2-го типа и ожирение. Патогенетическая связь обусловлена тем, что каспаза-1 влияет на уровни IL-1 β и IL-18, которые ослабляют секрецию инсулина. Кроме этого, каспаза-1 способствует уменьшению поглощения клетками глюкозы, что связано с состоянием инсулинорезистентности [182].

Мутации в генах NLRP-3 инфламмасомы, сопровождающиеся гиперпродукцией IL-1 β , ассоциированы с развитием таких иммуновоспалительных заболеваний, как неонатальное мультисистемное воспалительное заболевание, подагра, синдром Макла—Уэльса, криопиринопатии [39].

Помимо NLRP-3 инфламмасомы при ИБПЗ немаловажную роль играет другая инфламмазома, а именно — NLRC4 инфламмазома, которая реагирует на такие DAMP, как белок теплового шока — HSP90 и SGT1 (см. выше) И в этом случае признаки воспаления, обусловленные NLRC4 инфламмасомой, являются следствием

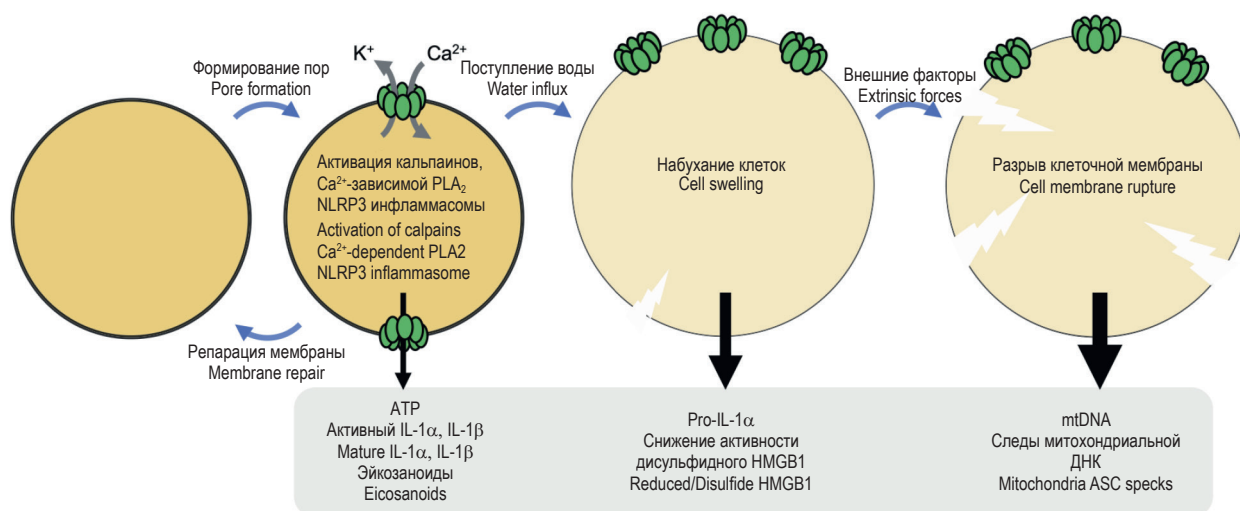


Рисунок 12. Формирование цитоплазматических пор в 10-15 нм при пироптозе создают возможность высвобождения цитозольного содержимого

Примечание. В составе этого содержимого находятся такие DAMP, как АТФ, IL-1 α , IL-1 β , HMGB1, митохондриальная ДНК (мтДНК), и собственно митохондрии, адаптерный белок ASC, способствующий активированию каспазы-1. В пироптотических клетках формируется провоспалительная NLRP-3 инфламмосома, по материалам [179].

Figure 12. Formation of cytoplasmic pores in 10-15 nm during pyroptosis makes it possible to release cytosolic contents

Note. This content contains such DAMPs as ATP, IL-1 α , IL-1 β , HMGB1, mitochondrial DNA (mtDNA), and mitochondria proper, the ASC adapter protein that promotes the activation of caspase-1. Proinflammatory NLRP3 inflammasome is formed in prostatic cells, according to materials [179].

гиперпродукции IL-1 β и IL-18 и быстрой гибели клеток путем пироптоза. Мутации, ассоциированные со структурой NLRC4 инфламмосомы, сопровождаются существенным увеличением в сыворотке крови уровня маркерного цитокина пироптоза – IL-18 [28].

Очень важное свойство NLRP-3 инфламмосомы и, связанного с ней пироптоза, имеющего непосредственное отношение к патогенезу ИВРЗ – это влияние «NLRP-3 воспаления» на адаптивный иммунитет. Маркерные цитокины пироптоза – IL-1 β и IL-18 играют важную роль в формировании адаптивных иммунных реакций. IL-1 β регулирует раннюю дифференцировку Th17-клеток [7].

Напомним, что субпопуляция Th17-лимфоцитов дифференцируется из активированных CD4^+ клеток независимо от Th1- и Th2-лимфоцитов и продуцирует ключевые цитокины – IL-17 и IL-23. Th17-клетки принимают участие в патогенезе ИВРЗ за счет своей провоспалительной активности, которая проявляется в поддержании хронического воспаления. Было показано, что IL-1 β взаимодействует с IL-23, индуцируя развитие $\gamma\delta$ -Т-клеток, продуцирующих IL-17, и тем самым способствует развитию аутоиммунных заболеваний. А синергизм действия IL-18 с IL-12 стимулирует Th1 клетки к продукции IFN γ , что способствует формированию ГЗТ-гранулем при ИВРЗ [173].

АГ-презентирующая функция Мф и ДК в отношении активации наивных Т-клеток с образованием эффекторных клеток Th1 и Th17 нуждается в присутствии в них NLRP3 инфламмосомы [18].

NLRP3, адапторная молекула ASC и связанная с ними активность каспазы-1, опосредуют контактную гиперчувствительность, которая состоит из опосредованных Т-клетками клеточных иммунных реакций на контактные аллергены [172].

Таким образом, инфламмосома NLRP3 опосредует продукцию IL-1 β и IL-18, которые, взаимодействуя с другими провоспалительными цитокинами, регулируют генерацию Т-эффекторных клеток и влияют на прогрессирование аутоиммунных заболеваний, в том числе и ИВРЗ.

Представлены интересные результаты экспериментальных исследований, в которых идентифицирован новый путь регуляции численности активных Мф, и этот путь связан с HMGB1-индуцированным пироптозом Мф. HMGB1 – это негистоновый ядерный высокомолекулярный групповой белок 1, присутствующий в ядре и цитоплазме почти всех типов клеток, по своим функциональным свойствам является прототипом молекулы DAMP. HMGB1 высвобождается из клеток, подвергшихся инфекционному повреждению, некрозу, некробиозу или клеточному стрессу и, взаимодействуя с RAGE-рецептором, служит медиатором воспаления, индуцирует кле-

точные иммунные реакции, хемотаксис и высвобождение провоспалительных цитокинов. Взаимодействуя с рецепторами врожденного иммунитета (TLR2, TLR4, TLR7, TLR9), экспрессирующихся на ДК и Мф, HMGB1 способствует продукции $IFN\alpha$, $IL-1\beta$, $TNF\alpha$ плазмацитоидными ДК и Мф, тем самым способствуя прогрессированию продуктивного воспаления *in situ* и усилению АГ-презентирующей функции ДК и Мф. Кроме этого, имеются данные о том, что HMGB1 способен индуцировать анти-HMGB1-антитела, которые относят к общему классу анти-ядерных ауто-АТ при ревматических заболеваниях [147]. Кроме этого, HMGB1 обладает способностью активировать тканевые металлопротеиназы (MMP1-9) и тканевой плазминоген, внося тем самым существенный вклад в дезорганизацию рыхлой волокнистой соединительной ткани.

Показано, что HMGB1, взаимодействуя с TLR2-, TLR4- и TLR9-рецепторами Мф, а также с RAGE-рецептором, эндоцитируется в цитоплазму этих клеток. Эндоцитоз HMGB1 запускает каскад молекулярных событий, включая высвобождение катепсина В из поврежденных лизосом с последующим образованием пироптозом и активацию каспазы-1. В этой же работе были приведены данные о том, что HMGB1-индуцированный пироптоз Мф также происходит *in vivo* во время эндотоксемии, что свидетельствует о патофизиологическом значении этой формы пироптоза в развитии воспаления [190]. Сказанное иллюстрируется рисунком 13.

RAGE является трансмембранным белком I типа, членом суперсемейства иммуноглобулинов, экспрессирующийся во многих клеточных популяциях, включая эндотелиоциты, сосудистые гладкомышечные клетки, нейроны, нейтрофилы и макрофаги/моноциты. Одной из функций RAGE является рецепторная функция, опосредующая хемотаксис и цитокиновую активность HMGB1.

ASC – адаптерный белок, содержащий CARD, входящий в состав пироптосом, мобилизующий прокаспазу-1, что приводит к ее активации и ограниченному протеолизу до функционально активной каспазы-1

Пироптоз и воспалительные заболевания

Появляется все больше работ, свидетельствующих об активном участии пироптоза при аутовоспалительных и инфекционных заболеваниях. Значимость механизмов пироптоза показана при клинико-генетических исследованиях при так называемом криопирин-ассоциированном периодическом синдроме (CAPS), состоящем из трех патогенетически связанных хронических воспалительных заболеваний возрастающей тяжести, а именно – семейного синдрома холодного ау-

товоспаления (FCAS), синдрома Макла–Уэллса (MWS) и неонатального мультисистемного воспалительного заболевания (NOMID). При таком синдроме определены мутации, ассоциированные с усилением провоспалительных свойств NLRP-3 инфламماسомы, интенсификацией воспаления, усилением пироптоза и избыточной секреции $IL-1\beta$ и $IL-18$. Системное воспаление, свойственное FCAS, сопровождается лихорадкой, сыпью, болями в суставах и конъюнктивитом. Терапия анакинрой, блокирующей активность $IL-1\beta$, была высокоэффективной при FCAS. Весьма вероятно, что связанные с пироптозом клеток DAMP являются патогенетически значимыми при этом аутовоспалительном заболевании [71, 118].

Все больше работ убедительно свидетельствуют о важной роли пироптоза в патогенезе и прогрессировании СКВ. Избыточная активация пироптогенной NLRP3 инфламماسомы была определена у пациентов с СКВ и волчаночным нефритом [59].

В присутствии антител против dsDNA может индуцироваться активность провоспалительной NLRP3 инфламماسомы. Аналогично, взаимодействие U1-малого ядерного рибонуклеопротеина (U1-snRNP) и антител против него также активирует NLRP3 инфламмасому [167, 168].

На мышинной экспериментальной модели СКВ показано, что ингибирование NLRP3 инфламماسомы с помощью MCC950 уменьшало степень протеинурии и улучшало патоморфологическую картину волчаночного нефрита [59].

Повышенные уровни сывороточного $IL-18$ определялись у пациентов с СКВ, и эти уровни статистически значимо коррелировали с тяжестью поражения почек и активностью заболевания [73].

Кроме того, высокие уровни HMGB1 были представлены не только в крови, но и в образцах биопсии почек пациентов с СКВ и уровни HMGB1 в сыворотке крови коррелировали с активностью заболевания СКВ [202]. Антитела к HMGB1 также встречаются у пациентов с СКВ [6].

Имеется немало свидетельств активного участия пироптоза при РА. В частности, показано, что $IL-18$ обнаруживается в синовиальных оболочках пациентов с РА. Экспрессия $IL-18$ была тесно связана с выраженностью местного воспаления и этот же цитокин способствует хемотаксису активированных моноцитов в синовиальную оболочку [34]. У этих же пациентов обнаружено повышение экспрессии генов каспазы-1 и NLRP3 инфламماسомы и эта экспрессия обнаруживала прямую положительную корреляцию с уровнями $IL-1\beta$ и $IL-18$ [91]. Сыворотка крови пациентов

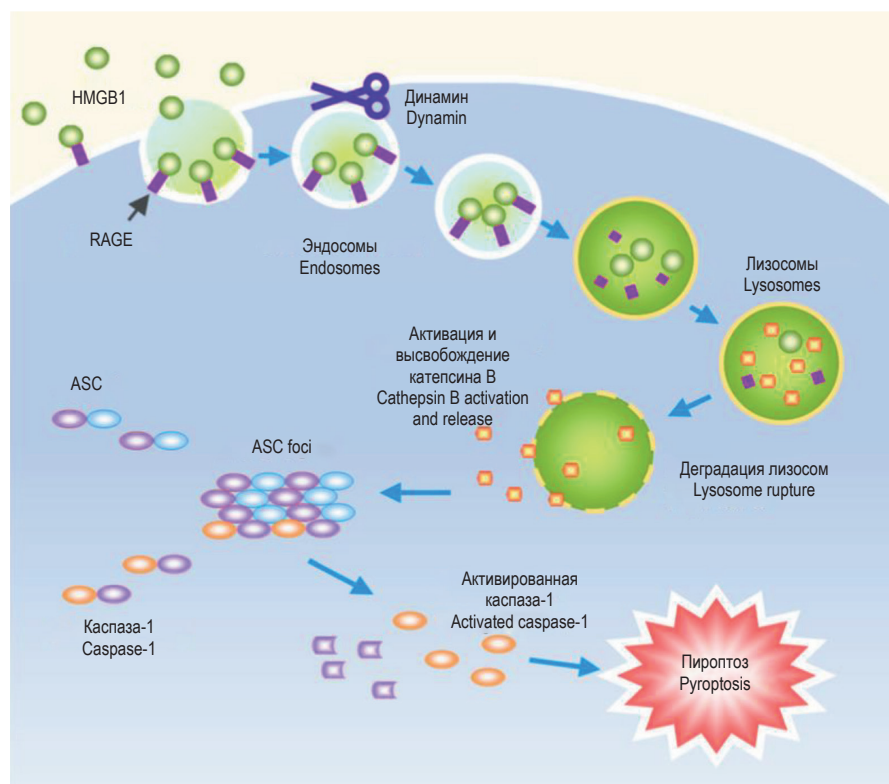


Рисунок 13. Модель HMGB1-индуцированного пироптоза макрофагов, пояснения в тексте

Примечание. Сокращения: HMGB1 – негистоновый ядерный высокомолекулярный групповой белок 1; RAGE – рецептор, опосредующий хемотаксис и цитокиновую активность HMGB1; ASC – адаптерный белок, содержащий CARD, входящий в состав пироптосом, способствующий переходу прокаспазы-1 в каспазу-1, по материалам [193].

Figure 13. Model of HMGB1-induced macrophage apoptosis, explanations in the text

Note. Abbreviations: HMGB1 is a non-histone nuclear highly mobile group protein 1; RAGE is a receptor mediating chemotaxis and cytokine activity of HMGB1; ASC is an adapter protein containing CARD, which is part of pyroptosomes, contributing to the transition of procaspase-1 to caspase-1, according to [193].

РА индуцировала газдермин D-зависимый пироптоз в моноцитах, и эта способность была связана с активностью заболевания [187].

Наличие CD4⁺T-клеток, подвергшихся пироптозу при РА, было подтверждено фактом дефицита фермента репарации ДНК (нуклеазы MRE11A) у этих больных. Дефицит нуклеазы MRE11A в CD4⁺T-клетках при РА вызывал утечку митохондриальной ДНК в цитозоль, с последующей сборкой инфламмосомы, активацией каспазы-1 и, соответственно, индукцией пироптоза в CD4⁺T-клетках [107].

В адьювантной модели артрита у крыс показано, что экспрессия ASC, NLRP3, каспазы-1, а также IL-1β и IL-18 была повышена в хондроцитах суставов крыс по сравнению с таковой у нормальных крыс [188].

Таким образом, пироптоз – это литический и воспалительный способ регулируемой гибели клеток, в результате которой внутриклеточные DAMP вытесняются быстрым разрывом плазматической мембраны. DAMP фагоцитируются

клетками макрофагально-моноцитарного ряда и ДК, в результате чего они приобретают свойства ауто-АГ. Наличие в очаге воспаления аутореактивных Т- и В-лимфоцитов обуславливает индукцию аутоиммунного ответа. Одновременно, при пироптозе DAMP, взаимодействуя с NLR-рецепторами, обуславливает сборку мультибелкового, олигомерного цитоплазматического комплекса – инфламмосом. При ИВРЗ наибольшее патогенетическое значение имеет NLRP3 инфламмосома. Закономерным итогом этих внутриклеточных молекулярных событий является гиперпродукция провоспалительных цитокинов IL-1β и IL-18, которые вместе с DAMP, привлекают *in situ* дополнительные иммунные клетки, усиливающие аутоиммунный ответ на ауто-АГ при ИВРЗ.

Значение нетоза при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях

Нейтрофилы (Нф) принадлежат к той категории уникальных клеток, которые используют смерть в качестве патогенетического механизма

модуляции воспаления, вызванного в том числе и DAMP, а также обеспечения эффективного удаления микроорганизмов во время инфекционного процесса.

Короткоживущие Нф способны быстро накапливаться в местах повреждения тканей, при наличии или при отсутствии инфекции, оперативно выполнять свои функции и отмирать с помощью механизмов, описанных ниже

Из известных форм запрограммированной и регулируемой гибели клеток у Нф описано по меньшей мере четыре типа — это апоптоз, аутофагическая гибель, некроптоз и нетоз. В процессах модуляции воспаления и элиминации инфекционных агентов принимают участие преимущественно две формы гибели нейтрофилов — апоптоз и нетоз.

Нетоз, или «внеклеточные сети, или ловушки», первоначально был отнесен к механизмам врожденного антиинфекционного иммунитета, реализуемого только Нф. Однако впоследствии этот феномен был выявлен в клетках макрофагально-моноцитарного ряда и назван «метозом» [51].

Экстернализация хроматина с образованием внеклеточных ловушек также обнаружена в эозинофилах, базофилах и тучных клетках [165].

Впервые новая, уникальная форма гибели Нф, несущая в себе функции врожденного антиинфекционного иммунитета, была описана в работе Brinkmann V. и соавт. в 2004 г. [27].

Авторы показали, что Нф, стимулированные IL-8, форбол-миристан-ацетатом (РМА) или липополисахаридом (ЛПС) при экспериментальной дизентерии и аппендиците у человека высвобождают гранулярные белки и хроматин, которые вместе образуют внеклеточные волокна, связывающие грамположительные и грамотрицательные бактерии. Эти внеклеточные ловушки (сети) обладали бактерицидными свойствами, которые обеспечивали высокую локальную концентрацию противомикробных агентов и предотвращали распространение микроорганизмов. Необходимо отметить важнейшее свойство нетоза, а именно — интенсивную локальную продукцию активных форм кислорода (АФК), обладающих выраженными бактерицидными свойствами. Первоначально этот феномен был описан как «кислородный взрыв» при фагоцитозе микробов Нф.

Таким образом, была открыта альтернативная форма гибели Нф, при которой реализуется эффекторная функция врожденного антиинфекционного иммунитета. Дальнейшее изучение этого феномена, показало активное участие нетоза при аутовоспалительных и аутоиммунных заболеваниях.

Нетоз является следствием последовательных внутриклеточных процессов, приводящих к смешиванию содержимого клеточного ядра с белковыми структурами, вытеснению этих образований из клеток и формированию внеклеточной волокнистой сети способной «захватить» и убить микроорганизмы. Сеть состоит из деспирализованной, транскрипционно неактивной ДНК, связанной с цитруллинизированными гистонами и гранулированными цитоплазматическими белками из первичных, вторичных и третичных гранул Нф, включая компоненты, обладающие воспалительной и бактерицидной активностями. К ним относятся эластаза нейтрофилов (NE), миелопероксидаза (МРО), катепсин G, α -дефензины, лактоферрин, пентраксин 3, желатиназа, протеиназа 3 и пептидогликансвязывающие белки [108].

В этих условиях ДНК нейтрофилов трансформируется в гетерохроматин внутри ядра, при этом ДНК оборачивается вокруг гистонов с образованием нуклеосом. При этом происходит важный при ИВРЗ процесс цитруллинизации гистоновых белков, имеющий важное значение при формировании ауто-АГ [87].

В контексте ИВРЗ триггерами нетоза могут быть следующие внеклеточные и внутриклеточные процессы:

- связывание TLR2 Нф грамположительными бактериями (витальный нетоз);
- связывание липополисахаридов грамотрицательных бактерий с Нф (витальный нетоз);
- опсонизация объекта фагоцитоза Нф компонентами активированной системы комплемента;
- аутофагия;
- связывание иммуноглобулинов и иммунных комплексов через Fc γ RIIA
- взаимодействие с рибонуклеопротеин — содержащими иммунными комплексами при СКВ
- некоторые аутоантитела (ANCA, сыворотки больных РА, СКВ);
- цитокины (IL-8, IL-17, TNF α , G-CSF, IFN α);
- хемокины;
- лектины и селектины;
- совместное культивирование активированных эндотелиальных клеток с Нф [23, 151].

Помимо бактериальных инфекций, нетоз может быть индуцирован также грибковыми [180], паразитарными [48] возбудителями, а также неинфекционными стимулами — кристаллами мочевой кислоты, кристаллами холестерина, аутоантителами, иммунными комплексами [64].

На рисунке 14 представлена картина нетоза, вызванного обработкой Нф форбол-миристан-ацетатом (РМА). Отчетливо видно, что РМА вы-

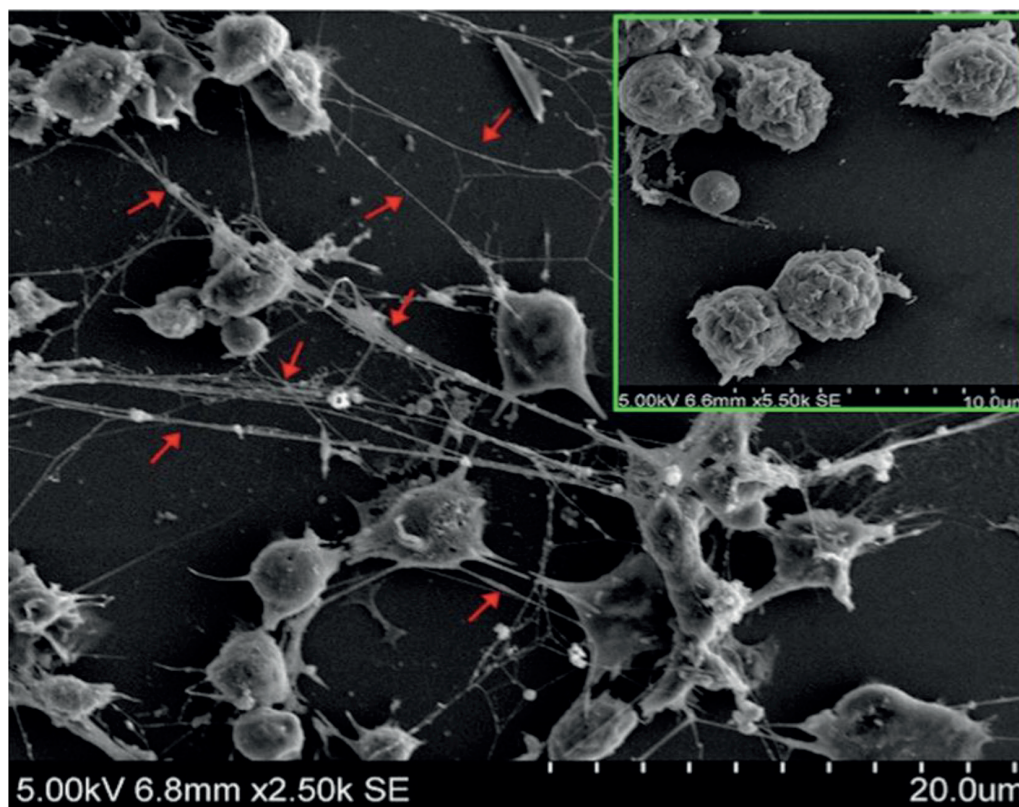


Рисунок 14. Картина нетоза, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа

Примечание. Красные стрелки указывают на нейтрофильные сети. Изображение в рамке отражает состояние intactных Нф, по материалам [74].

Figure 14. Picture of netosis obtained with a scanning electron microscope

Note. Red arrows indicate neutrophilic networks. The framed image reflects the state of intact Nf, according to materials [74].

зывает активный процесс формирования межклеточной сети, в которую вовлекаются все Нф. Создается нечто вроде клеточного конгломерата из активированных нейтрофилов, соединенных сетью в единое целое.

Не менее выразительны препараты нетоза, полученные методом иммунофлуоресценции. На рисунке 15 слева представлены intactные контрольные Нф, а справа Нф, стимулированные в течение 3 часов форбол-миристат-ацетатом (РМА). Нетоз определяется по признакам ремоделирования хроматина, визуализирующегося в виде экстрацеллюлярных структур, включающих в себя деспирализованную ДНК, гистоны и нейтрофильные белки — миелопероксидазу и нейтрофильную эластазу. Последняя, зеленого цвета, обрамляет клеточную стенку.

Идентифицированы несколько форм нетоза, различающиеся по внутриклеточным механизмам, а также по функциональному предназначению.

Первая форма — суицидальный нетоз. Это медленный процесс (от 120 до 240 минут), первым

этапом которого является сборка и активация комплекса NADPH-оксидазы (Nox), способствующей образованию активных форм кислорода (АФК) [3]. АФК обладает выраженными бактерицидными свойствами, но также повышает протеолитическую (а значит, и микробицидную) активность протеин-аргинин дезаминазы 4 (PAD4) и эластазы нейтрофилов (NE), а также миелопероксидазы (MPO). PAD4 и NE расщепляют основные ядерные гистоны. Отметим также, что комплекс NADPH-оксидаза способствует транслокации NE из цитозольных гранул в ядро, где она способствует расщеплению хроматина посредством расщепления гистонов.

Одновременно происходит патогенетически важный процесс при ИВРЗ, а именно — гиперцитруллинизация гистонов ферментом PAD4. Это приводит к деконденсации и мобилизации хроматина и, кроме этого, как указывалось выше, к индукции ауто-АГ, и, как следствие, дезорганизации рыхлой волокнистой соединительной ткани. Отметим, что активность фермента PAD4

отличает нетоз от апоптоза, поскольку индукция апоптоза предотвращает активацию PAD4 [151].

Важным свойством PAD4 является то, что во внеклеточной среде активация PAD4 может приводить к образованию цитруллинированных форм фибриногена, фибронектина, коллагена и других матриксных белков, которые в этой ситуации могут выступать в качестве ауто-АГ при ИВРЗ [53].

Следующий этап суицидального нетоза состоит из МРО-зависимого распада оболочки ядра и смешивания ДНК с белками гранул внутри большой внутриклеточной вакуоли перед выдавливанием сеток из перфораций в плазмалемме с последующей гибелью Нф [125].

При суицидальном нетозе в дополнение к составу сети, указанному выше, в Нф определяется матриксная металлопротеиназа 9 (MMP-9), лизосомальный мембранный белок-2 (LAMP-2) и антибактериальный пептид, полученный из кателицидина, называемый LL-37. Активность этих белков способствует уничтожению некоторых микробов [176].

Отметим, что активация кальциевых и цинковых мембранных каналов способствует генерации АФК и цитруллинизации гистонов ферментом PAD4. Этому способствуют и процессы деграда-

ции внутриклеточных бактериальных, вирусных и простейших патогенов при аутофагии [65].

Вторая форма нетоза — витальный нетоз, возникает в ответ на патогенные микроорганизмы и представляет собой относительно быстрый процесс — от 5 до 60 минут. Эта форма нетоза характеризуется тем, что ядро теряет свою характерную дольчатую структуру. Мембрана ядра распадается, хроматин деконденсируется и попадает в цитоплазму, в то время как плазматическая мембрана остается неповрежденной. Затем, по истечении времени, плазмалемма разрывается, что приводит к высвобождению сети. Витальный нетоз зависит от АФК и активности NE [27, 125]. При этом обнаруживается интересное явление. Нф, лишенные ядра вследствие нетоза, сохраняют свою хемотаксическую способность, «преследуя и удерживая» бактерии, в частности стафилококк [196]. Т. е. этот механизм щадит внешнюю мембрану Нф, тем самым позволяя Нф отчасти выполнять свои функции.

Витальный нетоз индуцируется через рецептор TLR2, а также компонентами активированной системы комплемента (C1q) после контакта с грамположительными бактериями. Активное участие при этом принимают и тромбоциты, которые посредством своего TLR4-рецептора взаимодействуют с ЛПС грамотрицательных

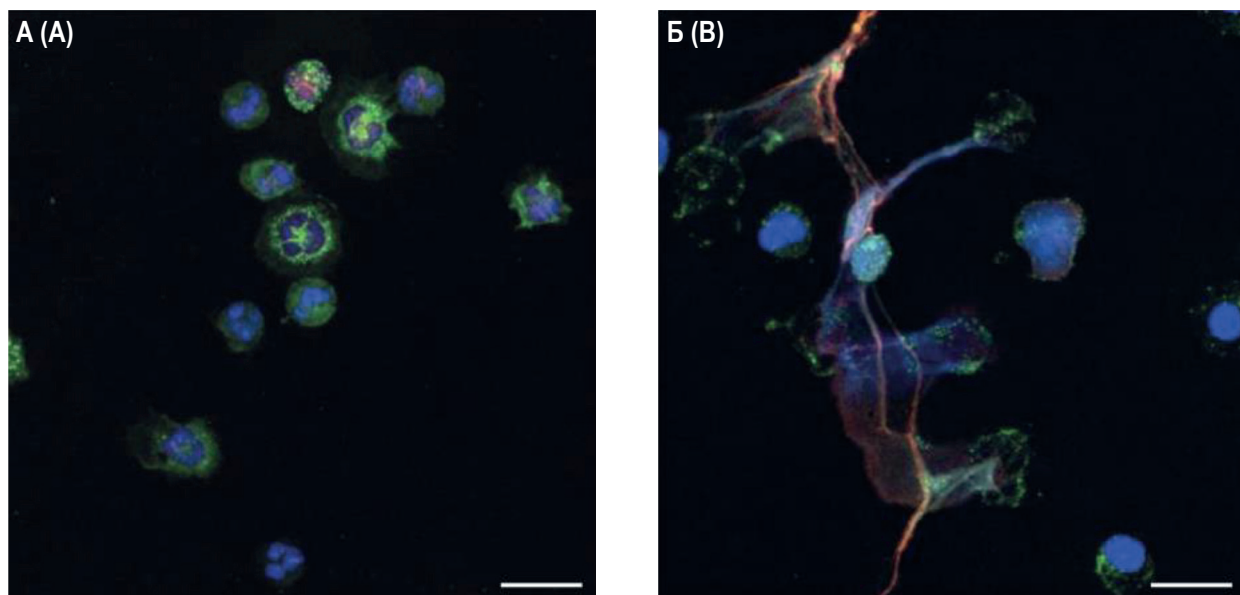


Рисунок 15. Нетоз, индуцированный 3-часовой инкубацией Нф с 50 нМ РМА

Примечание. А – intactные Нф, Б – РМА-стимулированный нетоз. Зеленая флуоресценция – МАТ к нейтрофильной эластазе; красная флуоресценция – МАТ к хроматину; ДНК, меченная краской Hoechst – голубая флуоресценция. Метод иммунофлуоресценции, по материалам [14].

Figure 15. Netoz induced by 3-hour incubation of Nf with 50 nM PMA

Note. A, intact Nf; B, PMA-stimulated netosis.

Green fluorescence, MAT to neutrophil elastase; red fluorescence, MAT to chromatin; DNA labeled with Hoechst paint – blue fluorescence. Immunofluorescence method, based on materials [14].

бактерий и образуют агрегаты с нетозными Нф, благодаря своему прокоагулянтному эффекту.

Третья форма нетоза — митохондриальный нетоз. При этом определяется вытеснение митохондриальной ДНК из клеток без предварительной активации комплекса NADPH-оксидазы (Nox). Митохондриальный нетоз может быть индуцирован C5a компонентом активированной системы комплемента, ЛПС или иммунными комплексами, включающими в себя рибонуклеопротеины [111]. Эта форма нетоза является следствием выработки АФК митохондриями. Подобные «митохондриальные сетки» обнаружены после операций, но также у пациентов с хроническим гранулематозным заболеванием и при СКВ [123].

В нетотически трансформированных Нф определяется интересное свойство — это способность ограничивать воспаление за счет деградации цитокинов и хемокинов [163].

Однако чрезмерный нетоз может привести к повреждению тканей, например, в легких. Патогенетическая значимость нетоза показана при сердечно-сосудистых заболеваниях, атеросклерозе, тромбофилии, эндотелиальной дисфункции, канцерогенезе, а также при аутоиммунных заболеваниях [117].

С момента открытия нетоза интерес к Нф, как к потенциальным активным участникам аутоиммунных заболеваний, существенно вырос. Этот интерес обусловлен тем, что, прежде всего, в количественном отношении эти клетки являются преобладающими среди всех ядродержащих клеток крови. Эти клетки могут быть иммунологически активными и одновременно быть аутоантигенными мишенями. Последние свойства Нф связаны с широкой вариабельностью качеств этих клеток в ходе иммунного ответа — от секреции цитокинов, продукции антибактериальных агентов и формирования нетоза до стимуляции адаптивного иммунитета.

Нетоз может способствовать индукции аутоиммунитета. Активированные Нф и сети обнаруживаются в высоких концентрациях в очагах воспаления при различных аутоиммунных заболеваниях. Нарушение процесса очищения от сетей, более высокая концентрация сетей или взаимодействие сетей с другими иммунными клетками могут сыграть важную роль в нарушении аутоотолерантности.

Некоторые механизмы заключаются в следующем. Формирующиеся при нетозе сети включают в себя гистоны, последние, взаимодействуя с TLR2, TLR4 и инфламмасомой NLRP3, активируют каспазу-1 (центральный фермент инфламماسомы NLRP3), что приводит к высвобождению активного IL-1 β и IL-18. В такой ситуации про-

слеживаются черты сходства продуктов нетоза с DAMP [79].

Кроме этого, известно, что нетоз активирует созревание Мф и ДК и они усиливают реакцию Т-клеток даже на неоптимальные стимулы [178].

Ферменты, высвобождаемые Нф при нетозе, могут изменять внеклеточные собственные белки, делая их более иммуногенными. Кроме этого, большинство ауто-АГ, высвобождаемых при нетозе, могут стать более иммуногенными благодаря посттрансляционным модификациям. Цитруллинированные гистоны более предпочтительно распознаются ауто-АТ по сравнению с немодифицированными, что зарегистрировано при СКВ, синдроме Фелти, РА [151].

Другие посттрансляционные модификации гистонов, в частности ацетилирование, также могут усиливать иммуностимулирующий потенциал нетоза [181].

Нетоз часто вызывается патогенами. Известно, что инфекции могут способствовать развитию аутовоспалительных и аутоиммунных заболеваний, в частности из-за скопления бактерий и аутологичного ядерного хроматина. Эта смесь ДНК человека и бактерий может иметь значение при индуцировании аутоиммунного ответа против ДНК, поскольку бактериальная ДНК содержит гипометилированные CpG-мотивы, которые непосредственно стимулируют TLR-рецепторы (TLR9) на В-клетках, Мф и ДК. В результате сети запускают выработку ауто-АТ В-клетками памяти, активируются плазмацитоподобные дендритные клетки (пДК), которые являются основными продуцентами IFN I типа [151]. Подобная последовательность событий способствует адаптивному иммунному ответу на собственные антигены. Нейтрофильные сети также могут инициировать апоптоз макрофагов через повреждение митохондрий.

Нф являются доминирующими в КВИ при системных васкулитах, в инфильтратах кожи при дерматомиозите, в синовиальном экссудате при РА и на границе паннус/хрящ, где происходит наибольшее повреждение тканей [30, 31, 132].

При СКВ в крови пациентов обнаруживаются повышенные уровни апоптотических, активированных и незрелых нейтрофилов, а процент апоптотических и активированных нейтрофилов положительно коррелирует с активностью заболевания [20].

Также нетоз может быть источником ауто-АГ при ИВРЗ. Нетотически трансформированные Нф могут служить подходящими мишенями для аутоантител. «Нейтрофильный аутоиммунитет», идентифицируемый, в частности, по факту продукции анти-нейтрофильных цитоплазматических ауто-АТ (ANCA), связан с васкулитами

мелких сосудов — микроскопическим полиангиитом, гранулематозом Вегенера, синдромом Черга-Стросса и узелковым полиартериитом [42, 113].

ANCA описаны при системной склеродермии (СС) и СКВ. Кроме этого, ANCA антитела к рибонуклеопротеину (RNP) стимулируют нетоз после обработки Нф провоспалительными цитокинами [86].

Патогенетическая связь между васкулитами и нетозом подтверждается данными о том, что активированные эндотелиоциты способны прямо стимулировать Нф к нетозу, которые, пребывая в этом состоянии, могут уже сами вызвать повреждение эндотелия [66].

Патогенетическое значение нетоза при СКВ подтверждено многочисленными данными. При этом заболевании сети обнаруживаются в коже и почечных клубочках, причем клиренс нетотических клеток существенно нарушен вследствие недостаточной фагоцитарной функции Мф. Это может привести к постоянному присутствию нейтрофильных ауто-АГ.

Аутоантитела, элюированные из биопсий при волчаночном нефрите человека, во всех случаях были специфичны к компонентам нетоза [24].

Кроме того, чрезмерное образование и недостаточное очищение от сетей приводят к повышению их остаточного уровня, обуславливающего более высокие концентрации в крови циркулирующей внеклеточной ДНК. Повышенные уровни

внеклеточной ДНК патогенетически связаны с активностью волчаночного нефрита [198].

Нетотические сети обычно разрушаются циркулирующими нуклеазами, такими как ДНК-аза. Экспериментально показано, что сыворотка крови от пациентов СКВ нарушает этот процесс, способствуя тем самым накоплению сетей и пролонгации воспаления. Связывается этот эффект с наличием повышенных уровней антител, направленных против гистонов и ДНК, а также гипокомplementемии (C1q компонента) [103].

Весьма показательны результаты исследования NET-реактивности сывороток крови от больных СКВ.

На рисунке 16 представлены результаты иммунофлуоресцентного исследования NET-реактивности сыворотки крови больных СКВ, свидетельствующие о том, что нетоз при ИВРЗ может быть источником ауто-АГ. А — это интактные нейтрофилы, обработанные сывороткой крови от больных СКВ, В — нейтрофилы, у которых нетоз был индуцирован ЛПС и затем эти клетки были проинкубированы с сывороткой крови больных СКВ. На препаратах ДНК идентифицируется по голубому свечению, IgG от больных СКВ, связавшийся с нетотическими нейтрофилами красного цвета, плазмолемма нейтрофилов окрашена зеленым цветом.

Видно, что при ЛПС-индуцированном нетозе нейтрофилов от здоровых доноров ауто-АТ (IgG-фракция) от больных СКВ связываются со структурами нетотически измененных нейтрофилов.

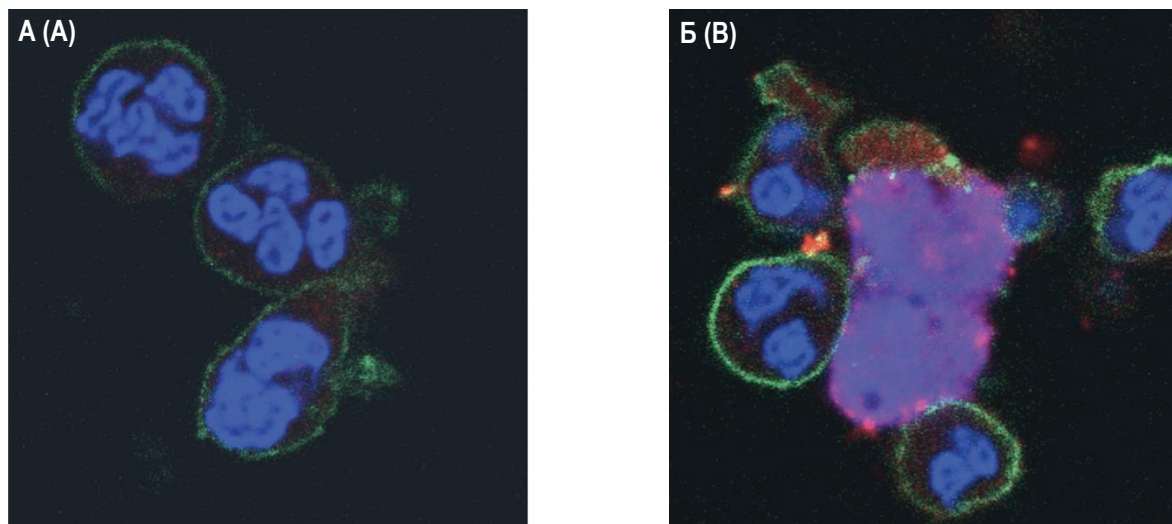


Рисунок 16. Иммунофлуоресцентный анализ NET-реактивности сыворотки крови от больных СКВ

Примечание. А — интактные нейтрофилы от здоровых доноров, обработанные сывороткой крови больных СКВ, В — ЛПС-индуцированный нетоз нейтрофилов здоровых доноров, также обработанных сывороткой крови больных СКВ, по материалам [53].

Figure 16. Immunofluorescence analysis of NET-reactivity of blood serum from patients with SLE

Note. A, intact neutrophils from healthy donors treated with blood serum of SLE patients. B, LPS-induced netosis of neutrophils from healthy donors also treated with blood serum of SLE patients, according to materials [53].

Аналогичные данные были получены и при синдроме Фелти. Т. е. нетоз может быть потенциальным источником уникальных ауто-АГ при ИВРЗ, которые отсутствуют в нестимулированных нейтрофилах.

Идентифицирована подгруппа Нф низкой плотности, названная гранулоцитами низкой плотности (LDG). Эти клетки обладают повышенной склонностью к спонтанному нетозу, а также к гиперпродукции провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-8, TNF), измененной фагоцитарной активностью, повышенной способностью синтезировать IFN I типа и цитотоксичностью по отношению к эндотелиальным клеткам [32].

При СКВ матриксные металлопротеиназы (ММП-2 и ММП-9), выделяемые LDG во время формирования сети, могут нарушать эндотелий-зависимую вазорелаксацию и индуцировать апоптоз эндотелиальных клеток [33].

Кроме того, нетотические Нф (LDG подгруппа) являются источником IFN I типа, имеющих крайне важное патогенетическое значение при ИВРЗ.

Нарушение клиренса компонентов нетоза в зародышевых центрах вторичных лимфоидных органов может привести к презентации ауто-АГ аутореактивным В-клеткам с последующей продукцией анти-нейтрофильных АТ. Наконец, появляется все больше работ, свидетельствующих и значительной патогенетической роли митохондриального нетоза при СКВ. Основное значение в этом случае отводится продукции митохондриальных АФК, стимулирующих нетоз. Показана роль нетоза при ANCA-ассоциированных васкулитах (AAV), являющихся первичными системными некротизирующими васкулитами. У пациентов с AAV определяется повышенный уровень нетотически трансформированных Нф в кровотоке, такие же сети были идентифицированы и в образцах биопсии почечной ткани [86].

Эти сетевые структуры являются высокоиммуногенными и запускают адаптивные иммунные реакции, имеющие отношение к аутоиммунитету, приводящие к активации В-клеток и выработке аутоантител [161].

Как отмечалось выше Нф являются наиболее распространенными клетками в синовиальной жидкости и синовиальной оболочке пациентов с РА.

Усиленный нетоз наблюдался в циркулирующих Нф, а также в Нф синовиальной жидкости при РА по сравнению с Нф здоровых доноров и пациентов с остеоартритом. Кроме того, сетчатые Нф проникали в синовиальную ткань РА, ревматоидные узлы и кожу. Нетоз коррелировал с уровнями ауто-АТ (АСРА), а также с системными маркерами воспаления. В свою очередь, наличие

ауто-АТ (АСРА и RF) при РА и продукция провоспалительных цитокинов может стимулировать Нф к нетозу.

При РА в процессе нетоза на Нф в синовиальной оболочке экспрессировались цитруллинированные ауто-АГ, стимулирующие продукцию таких ауто-АТ, как АСРА [171].

Антитела к цитруллинированному виментину эффективно индуцировали образование сети. Более того, провоспалительные цитокины — IL-17 и TNF α индуцировали нетоз в Нф больных РА. Одновременно нетоз значительно усиливал воспалительный ответ синовиальных фибробластов больных РА за счет продукции IL-6, IL-8, хемокинов и молекул адгезии. Нф при РА экспрессируют высокие уровни PAD2 и PAD4 и накапливаются в синовиальной жидкости пациентов с РА во время обострения заболевания [87].

При РА определяется усиленный ЛПС-индуцированный нетоз, что отчетливо видно на рисунке 17.

На представленных препаратах Нф периферической крови и синовиальной жидкости нетоз идентифицируется по зеленому свечению мембраны Нф, обусловленной наличием в ней эластазы нейтрофилов (NE). Справа представлен препарат Нф от больных РА. Отчетливо видно, что эти клетки демонстрируют значительно повышенную способность к образованию сети. Слева представлен препарат с контрольными Нф от здоровых людей, также стимулированными ЛПС. Видно, что в этом случае признаки нетоза практически отсутствуют. Более того, в этой же работе показано, что при РА признаки усиленного спонтанного нетоза наблюдались у нестимулированных Нф течение 1 часа после культивирования и продолжали увеличиваться в течение 2-3 часов. Также сетчатые нейтрофилы были обнаружены в виде инфильтрирующих клеток в синовиальной ткани, ревматических узелках и коже пациентов с РА. Иными словами, патогенетически процесс нетоза при РА встречается во всех очагах продуктивного воспаления (*locus morbi*). Также была обнаружена значительная корреляция между процентом сетчатых Нф и уровнями С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови, скоростью оседания эритроцитов (СОЭ), АСРА и IL-17, т. е. маркерами системного воспаления. Однако, продолжительность заболевания, острота артрита по клиническим признакам, титры ревматоидного фактора (РФ) не коррелировали с нетозом [87].

Повышенные уровни нетоза определяются также у пациентов с дерматомиозитом, полимиозитом и ювенильным дерматомиозитом. Это подтверждается высоким содержанием LL37 в плазме и циркулирующими в крови свободной ДНК

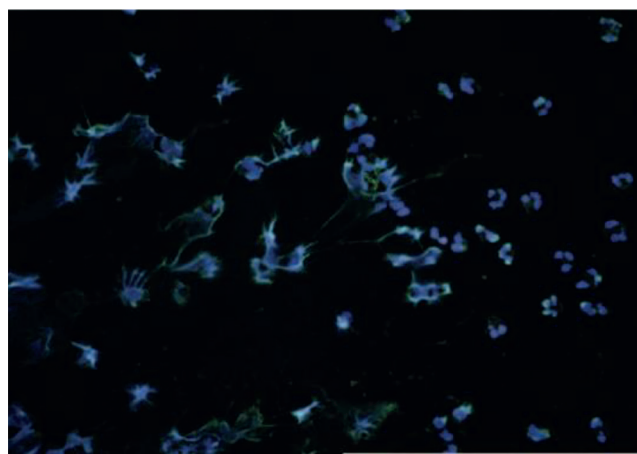
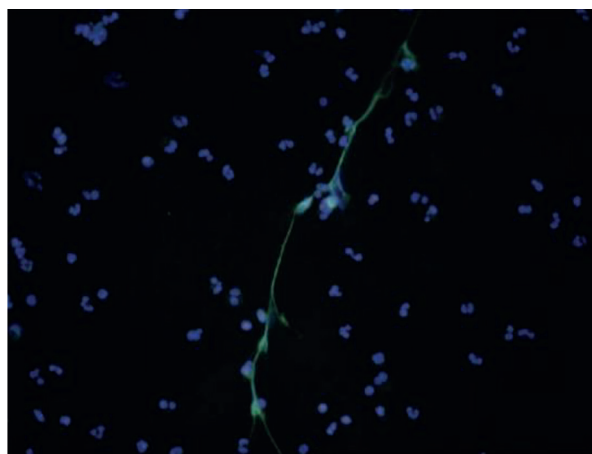


Рисунок 17. Нетоз нейтрофилов периферической крови больных РА

Примечание. Нетоз индуцировался действием бактериального липополисахарида (ЛПС). Сети визуализировались при флуоресцентной микроскопии как структуры, содержащие эластазу нейтрофильных клеток (зеленый), а также содержащие соединение 4',6-диамидино-2-фенилиндол (DAPI) (синий). Ув. $\times 40$, по материалам [87].

Figure 17. Netoz neutrophils of peripheral blood of RA patients

Note. Netoz was induced by the action of bacterial lipopolysaccharide (LPS). The networks were visualized by fluorescence microscopy as structures containing neutrophil cell elastase (green), as well as containing the compound 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blue). Magnification $\times 40$, according to materials [87].

(cfDNA) и IL-8. Принципиально такая же картина определялась и при ювенильном идиопатическом артрите с системным началом [52].

Из представленных материалов видно, что такая форма запрограммированной и регулируемой гибели Нф, как нетоз, принимает активное патогенетическое участие при ИВРЗ. Несмотря на то, что остается еще много нерешенных вопросов, касающихся нетотических внутриклеточных молекулярных процессов и их функционального предназначения, взаимосвязи продуктивного воспаления и нетоза, тем не менее имеющиеся знания в этой области, позволяют определить направления исследований, связанных с регуляцией этого процесса. С учетом значимости «нейтрофильного иммунитета» в патогенезе ИВРЗ, можно предположить, что будущие исследования будут связаны в том числе с поиском средств и методов воздействия на нетоз, удовлетворяющих запросам клинической практики.

Заключение

Имеющийся на сегодняшний день значительный массив научной информации демонстрирует тесную взаимосвязь между гибелью клеток, воспалением и иммуногенезом. Эта взаимосвязь сформировалась в процессе биологической эволюции, отличается выраженным консерватизмом и подчиняется общебиологическим закономерностям молекулярно-клеточных процессов в клетке. Важнейшим фактором поддержания гомеостаза организма является баланс между вы-

живанием клеток и их гибелью. Высвобождающиеся в процессе гибели клеток в составе КВИ при ИВРЗ DAMPs индуцируют состояние аутореактивности, обусловленной в том числе модуляцией процессов гибели клеток с помощью PRR-рецепторов клеток врожденной иммунной системы. Идентифицированные внутриклеточные молекулярные процессы, имеющие причинно-следственные связи с различными формами клеточной гибели, позволяют расширить горизонт научной интерпретации патогенеза ИВРЗ, а также обосновать стратегию модуляции целевых молекул и кандидатных генов при запрограммированной гибели клеток у пациентов с ИВРЗ.

Из представленного в настоящем обзоре материала явствует, что всем видам аутофагии, апоптоза, некроптоза, пироптоза и нетоза принадлежит фундаментальная патогенетическая роль при ИВРЗ.

Значение аутофагии при ИВРЗ обусловлено активным участием этого внутриклеточного процесса в кросс-презентации продуктов дезорганизации рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани с последующей генерацией аутореактивных $CD4^+$ и $CD8^+$ клеток. Мутации ключевого гена аутофагии ATG5 ассоциированы с нарушением регуляции секреции провоспалительных цитокинов, клиренса умирающих клеток и презентации ауто-АГ. Наиболее демонстративно эти явления представлены при СКВ. Показана центральная патогенетическая роль аутофагии в процессах деструкции суставов при РА. В диагностических целях оценка уровня аутофагии в био-

птатах синовиальной ткани может быть полезной при диагностике РА и оценки активности заболевания. Понимание функционального баланса между патогенной и цитопротекторной аутофагией и возможностями модуляции этих процессов крайне важно в отношении патогенетической интерпретации аутофагии при ИВРЗ.

Существует тесное взаимодействие между аутофагией и апоптозом, подтвержденное перекрестом внутриклеточных молекулярных активационных сигналов (каспазы, связанные с апоптозом, могут взаимодействовать с белками, связанными с аутофагией). В этой связи нашла обоснование следующая точка зрения относительно влияния аномального апоптоза на индукцию аутоиммунного ответа при ИВРЗ: неэффективный фагоцитоз апоптотических клеток Мф и ДК влияет на образование ауто-АГ, презентация которых Мф и зрелыми ДК Т-клеткам может стимулировать выработку аутоантител. Этот процесс присутствует в качестве патогенетического звена при СКВ, РА, синдроме Шегрена, полимиозитах.

Принципиальное патогенетическое значение некроптоза при ИВРЗ обусловлено тем, что высвобождающиеся при дезорганизации рыхлой волокнистой неоформленной соединительной ткани DAMПы, взаимодействуя с NLR-, TNF-, IFN-рецепторами клеток-мишеней, активируют ключевые некроптотические киназы RIPK1, RIPK3 и MLKL. Регулирование указанных рецептор-взаимодействующих серин/треониновых киназ 1 и 3 при некроптозе создает перспективу разработки молекулярных мишеней и средств модуляции их активности при СКВ и РА. К механизмам контроля некроптоза относят и аутофагию.

В контексте ИВРЗ процесс пироптоза клеток в составе КВИ сопровождается поступлением из пироптотических пор во внеклеточную среду

DAMPов, имеющих ауто-антигенные характеристики и индуцирующие аутоиммунный ответ. Из этих же пор во внеклеточную среду массивно поступают крайне активные провоспалительные цитокины IL-1 β и IL-18. Блокирование их активности составляют одну из целей противовоспалительной терапии при ИВРЗ.

Не менее значима патогенетическая роль и нетоза при ИВРЗ. Нф являются доминирующими в КВИ при системных васкулитах, в инфильтратах кожи при дерматомиозите, в синовиальном экссудате при РА и на границе паннус/хрящ. Процесс нетоза этих клеток может быть источником уникальных ауто-АГ при ИВРЗ и одновременно нетотически трансформированные Нф являются подходящими мишенями для аутоантител. «Нейтрофильный аутоиммунитет», идентифицируемый, в частности, по факту продукции анти-нейтрофильных цитоплазматических ауто-АГ (ANCA), имеет место при микроскопическом полиангиите, гранулематозе Вегенера, синдроме Чарга–Стросса, узловатом полиартериите, системной склеродермии, СКВ, дермато-полимиозите.

Очевидно, что накопленные знания в области патофизиологии аутофагии, апоптоза, некроптоза, пироптоза и нетоза расширяют наше понимание фундаментальных внутриклеточных молекулярных процессов, имеющих прямое и непосредственное влияние на реактивность врожденной и адаптивной систем иммунитета. Молекулярно-клеточные изменения при указанных формах гибели клеток в составе КВИ лежат в основе патогенеза ИВРЗ. Идентификация целевых молекулярных мишеней представляет собой наиболее перспективную стратегическую область разработки медикаментозных средств модуляции продуктивного воспаления при ИВРЗ.

Список литературы / References

1. Глебов Р.Н. Эндоцитоз и экзоцитоз. М.: Высшая школа, 1987, 91 с. [Glebov R.N. Endocytosis and exocytosis]. Moscow: High School, 1987. 91 p.
2. Насонов Е.Л., Александрова Е.Н., Новиков А.А. Аутоиммунные ревматические заболевания – проблемы иммунопатологии и персонализированной терапии // Вестник РАМН, 2015. Т. 70, № 2. С. 169-182. [Nasonov E.L., Alexandrova E.N., Novikov A.A. Autoimmune rheumatic diseases – problems of immunopathology and personalized treatment. *Vestnik rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2015, Vol. 70, no. 2, pp. 169-182. (In Russ.)]
3. Пинегин Б.В., Воробьева Н.В., Пашенков М.В., Черняк Б.В. Роль митохондриальных активных форм кислорода в активации врожденного иммунитета // Иммунология, 2018. Т. 39, № 4. С. 221-229. [Pinegin B.V., Vorobjeva N.V., Pashenkov M.V., Chernyak B.V. The role of mitochondrial reactive oxygen species in activation of innate immunity. *Immunologiya = Immunologiya*, 2018, Vol. 39, no. 4, pp. 221-229. (In Russ.)]
4. Саидов М.З. Патогенетическое значение клеточного инфильтрата при иммуновоспалительных ревматических заболеваниях // Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 6. С. 1239-1274. [Saidov M.Z. Pathogenetic value of cell infiltrate in immunoinflammatory rheumatic diseases. *Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2021, Vol. 23, no. 6, pp. 1239-1274. (In Russ.)] doi:10.15789/1563-0625-PVO-2386.
5. Ярилин А.А., Никонова М.Ф., Ярилина А.А., Варфоломеева М.И., Григорьева Т.Ю. Апоптоз, роль в патологии и значимость его оценки при клинико-иммунологическом обследовании больных // Медицинская иммунология, 2000. Т. 2, № 1. С. 7-16. [Yarilin A.A., Nikonova M.F., Yarilina A.A., Varfolomeeva M.I.,

Grigorieva T.Yu. Apoptosis, importance of its evaluation in immunopathological states. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2000, Vol. 2, no. 1, pp. 7-16. (In Russ.)]

6. Abdulahad D.A., Westra J., Bijzet J., Limburg P.C., Wallenberg C.G., Bijl M. High mobility group box 1 (HMGB1) and anti-HMGB1 antibodies and their relation to disease characteristics in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res. Ther.*, 2011, Vol. 13, no. 3, R71. doi:10.1186/ar3332.

7. Acosta-Rodriguez E.V., Napolitani G., Lanzavecchia A., Sallusto F. Interleukins 1 β and 6 but not transforming growth factor- β are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells. *Nat. Immunol.*, 2007, Vol. 8, no. 9, pp. 942-949.

8. Agostini L., Martinon F., Burns K., McDermott M.F., Hawkins P.N., Tschopp J. NALP3 forms an IL-1 β -processing inflammasome with increased activity in Muckle-Wells autoinflammatory disorder. *Immunity*, 2004, Vol. 20, no. 3, pp. 319-325.

9. Aichinger M., Wu J., Nedjic L.K. Macroautophagy substrates are loaded onto MHC class II of medullary thymic epithelial cells for central tolerance. *J. Exp. Med.*, 2013, Vol. 210, no. 2, pp. 287-300.

10. Albert M.L., Sauter B., Bhardwaj N. Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class-restricted CTLs. *Nature*, 1998, Vol. 392, pp. 86-89.

11. Albert M.L., Pearce S.F., Francisco L.M., Sauter B., Roy P., Silverstein R.L., Bhardwaj N. Immature dendritic cells phagocytose apoptotic cells via alphavbeta5 and CD36, and cross-present antigens to cytotoxic T lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 1998, Vol. 188, no. 7, pp. 1359-1368.

12. Alessandri C., Barbat C., Vacirca D., Piscopo P., Confaloni A., Sanchez M., Maselli A., Colasanti T., Conti F., Truglia S., Perl A., Valesini G., Malorni W., Ortona E., Pierdominici M. T lymphocytes from patients with systemic lupus erythematosus are resistant to induction of autophagy. *FASEB J.*, 2012, Vol. 26, no. 11, pp. 4722-4732.

13. An N., Chen Y., Wang C., Yang C., Wu Z., Xue J., Ye L., Wang S., Liu H., Pan Q. Chloroquine autophagic inhibition rebalances Th17/Treg-mediated immunity and ameliorates systemic lupus erythematosus. *Cell. Physiol. Biochem.*, 2017, Vol. 44, no. 1, pp. 412-422.

14. Apel F., Zychlinsky A., Kenny E.F. The role of neutrophil extracellular traps in rheumatic diseases. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2018, Vol. 14, no. 8, pp. 467-475.

15. Baier A., Meineckel I., Gay S., Pap T. Apoptosis in rheumatoid arthritis. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2003, Vol. 15, no. 3, pp. 274-279.

16. Banchereau R., Cepika A.M., Banchereau J., Pascual V. Understanding human autoimmunity and autoinflammation through transcriptomics. *Annu. Rev. Immunol.*, 2017, Vol. 35, pp. 337-370.

17. Baumann I., Kolowos W., Voll R.E., Manger B., Gaip U., Neuhuber W., Kirchner T., Kalden J., Herrmann M. Impaired uptake of apoptotic cells into tingible body macrophages in germinal centers of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2002, Vol. 46, no. 1, pp. 191-201.

18. Beckley K.D., Wen H., Ting J.P. The Inflammasome NLRs in Immunity, Inflammation, and Associated Diseases. *Annu. Rev. Immunol.*, 2011, Vol. 29, pp. 707-735.

19. Bengtsson A.A., Gullstrand B., Truedsson L., Sturfelt G. SLE serum induces classical caspase-dependent apoptosis independent of death receptors. *Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 126, no. 1, pp. 57-66.

20. Bennett L., Palucka A.K., Arce E., Cantrell V., Borvak J., Banchereau J., Pascual V. Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood. *J. Exp. Med.*, 2003, Vol. 197, no. 6, pp. 711-723.

21. Berghe T.V., Vanlangenakker N., Parthoens E., Deckers W., Devos M., Festjens N., Guerin C.J., Brunk U.T., Declercq W., Vandenabeele P. Necroptosis, necrosis and secondary necrosis converge on similar cellular disintegration features. *Cell Death Differ.*, 2010, Vol. 17, no. 6, pp. 922-930.

22. Berghe T.V., Linkermann A., Jouan-Lanhuet S., Walczak H., Vandenabeele P. Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2014, Vol. 15, pp. 135-147.

23. Berthelot J.-M., Le Goff B., Neel A., Maugars Y., Hamidou M. NETosis: At the crossroads of rheumatoid arthritis, lupus, and vasculitis. *Joint Bone Spine*, 2017, Vol. 84, no. 3, pp. 255-262.

24. Bonnani A., Vaglio A., Bruschi M., Sinico R., Cavagna L., Moroni G., Franceschini F., Allegri L., Pratesi F., Migliorini P., Candiano G., Pesce G., Ravelli A., Puppo F., Martini A., Tincan A., Ghiggeri G. Multi-antibody composition in lupus nephritis: isotype and antigen specificity make the difference. *Autoimmun. Rev.*, 2015, Vol. 14, no. 8, pp. 692-702.

25. Bortoluci K.R., Medzhitov R. Control of infection by pyroptosis and autophagy: role of TLR and NLR. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2010, Vol. 67, no. 10, pp. 1643-1651.

26. Brennan M.A., Cookson B.T. Salmonella induces macrophage death by caspase-1-dependent necrosis. *Mol. Microbiol.*, 2000, Vol. 38, no. 1, pp. 31-40.

27. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 2004, Vol. 303, pp. 1532-1535.

28. Broderick L., De Nardo D., Franklin B.S., Hoffman H.M., Latz E. The inflammasomes and autoinflammatory syndromes. *Annu. Rev. Pathol.*, 2015, Vol. 10, pp. 395-424.

29. Cai P., Lu Z., Jiang T., Wang Z., Yang Y., Zheng L., Zhao J. Syndecan-4 involves in the pathogenesis of rheumatoid arthritis by regulating the inflammatory response and apoptosis of fibroblast-like synoviocytes. *J. Cell. Physiol.*, 2020, Vol. 235, no. 2, pp. 1746-1758.

30. Caproni M., Torchia D., Cardinali C., Volpi W., Del B. E., D'Agata A., Fabbri P. Infiltrating cells, related cytokines and chemokine receptors in lesional skin of patients with dermatomyositis. *Br. J. Dermatol.*, 2004, Vol. 151, no. 4, pp. 784-791.

31. Carlson J.A., Chen K.R. Cutaneous vasculitis update: small vessel neutrophilic vasculitis syndromes. *Am. J. Dermatopathol.*, 2006, Vol. 28, no. 6, pp. 486-506.

32. Carmona-Rivera C., Kaplan M.J. Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity. *Semin. Immunopathol.* 2013, Vol. 35, no. 4, pp. 455-463.

33. Carmona-Rivera C., Zhao W., Yalavarthi S., Kaplan M.J. Neutrophil extracellular traps induce endothelial dysfunction in systemic lupus erythematosus through the activation of matrix metalloproteinase-2. *Ann. Rheum. Dis.*, 2015, Vol. 74, no. 7, pp. 1417-1424.
34. Chadha S., Behl T., Bungau S., Kumar A., Arora R., Gupta A., Uddin V., Zengin G., Aleya L., Setia D., Arora S. Mechanistic insights into the role of pyroptosis in rheumatoid arthritis. *Curr. Res. Transl. Med.*, 2020, Vol. 68, no. 4, pp. 151-158.
35. Chen G.Y., Chen X., King S., Cavassani K.A., Cheng J., Zheng X., Cao H., Yu H., Qu J., Fang D., Wu W., Bai X., Lui J., Woodiga S., Chen C., Sun L., Hogaboam C., Kunkel S., Zheng P., Lui Y. Amelioration of sepsis by inhibiting sialidase-mediated disruption of the CD24-SiglecG interaction. *Nat. Biotechnol.*, 2011, Vol. 29, no. 5, pp. 428-435.
36. Chen G.Y., Nunez G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, Vol. 10, no. 12, pp. 826-837.
37. Cho Y.S., Challa S., Moquin D., Genga R., Ray T., Guidford M., Chan F. Phosphorylation-driven assembly of the RIP1-RIP3 complex regulates programmed necrosis and virus-induced inflammation. *Cell*, 2009, Vol. 137, no. 6, pp. 1112-1123.
38. Christofferson D.E., Li Y., Hitomi J., Zhou W., Upperman C., Zhu H., Gerber S.A., Gygi S., Yuan J. A novel role for RIP1 kinase in mediating TNF α production. *Cell Death Dis.*, 2012, Vol. 3, no. 6, e320. doi:10.1038/cddis.2012.64.
39. Church L.D., Cook G.P., McDermott M.F. Primer: inflammasomes and interleukin 1 β in inflammatory disorders. *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.*, 2008, Vol. 4, no. 1, pp. 34-42.
40. Colonna L., Lood C., Elkon K. B. Beyond apoptosis in lupus. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2014, Vol. 26, no. 5, pp. 459-466.
41. Cookson B.T., Brennan M.A. Pro-inflammatory programmed cell death. *Trends Microbiol.*, 2001, Vol. 9, no. 3, pp. 113-114.
42. Darrah E., Andrade F. NETs: the missing link between cell death and systemic autoimmune diseases? *Front. Immunol.*, 2013, Vol. 3, 428. doi:10.3389/fimmu.2012.00428.
43. Degterev A., Hitomi J., Gernsheid M., Chen I., Korkina O., Teng X., Abbott D., Cuny G., Yuan C., Wagner G., Hedrick S., Gerber S., Lugovskoy A., Yuan J. Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins. *Nat. Chem. Biol.*, 2008, Vol. 4, no. 5, pp. 313-321.
44. Degterev A., Huang Z., Boyce M., Li Y., Jagtap P., Mizushima N., Cuny G.D., Mitchison T.J., Moskowitz M.A., Yuan J. Chemical inhibitor of nonapoptotic cell death with therapeutic potential for ischemic brain injury. *Nat. Chem. Biol.*, 2005, Vol. 1, no. 2, pp. 112-119.
45. Denny M.F., Chandaroy P., Killen P., Caricchio R., Lewis E., Richardson B., Lee K., Gavalchin J., Kaplan M. Accelerated macrophage apoptosis induces autoantibody formation and organ damage in systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.*, 2006, Vol. 176, no. 4, pp. 2095-2104.
46. Deretic V. Autophagy in immunity and cell-autonomous defense against intracellular microbes. *Immunol. Rev.*, 2011, Vol. 240, no. 1, pp. 92-104.
47. Deter R.L., de Duve C. Influence of glucagon, an inducer of cellular autophagy, on some physical properties of rat liver lysosomes. *J. Cell Biol.*, 1967, Vol. 33, no. 2, pp. 437-449.
48. Díaz-Godínez C., Carrero J.C. The state of art of neutrophil extracellular traps in protozoan and helminthic infections. *Biosci. Re.*, 2019, Vol. 39, no. 1, BSR20180916. doi:10.1042/bsr20180916.
49. Doitsh G., Galloway N.L.K., Geng X., Yang Z., Monroe K.M., Zepeda O., Hunt P., Hatano H., Sowinski S., Munoz-Arias I., Greene W.C. Cell death by pyroptosis drives CD4 T-cell depletion in HIV-1 infection. *Nature*, 2014, Vol. 505, no. 7484, pp. 509-514.
50. Dondelinger Y., Aguilera M.A., Goossens V., Dubuisson C., Grootjans S., Dejardin E., Vandenabeele P., Bertrand M. RIPK3 contributes to TNFR1-mediated RIPK1 kinase- dependent apoptosis in conditions of cIAP1/2 depletion or TAK1 kinase inhibition. *Cell Death Differ.*, 2013, Vol. 20, no. 10, pp. 1381-1392.
51. Doster R.S., Rogers L.M., Gaddy J.A., Aronoff D.M. Macrophage Extracellular Traps: A Scoping Review. *J. Innate Immun.*, 2017, Vol. 10, no. 1, pp. 3-13.
52. Duvvuri B., Pachman L.M., Morgan G., Khojah A.M., Klein-Gitelman M., Curran M.L., Doty S., Lood C. Neutrophil extracellular traps in tissue and periphery in juvenile dermatomyositis. *Arthritis Rheumatol.*, 2020, Vol. 72, no. 2, pp. 348-358.
53. Dwivedi N., Radic M. Citrullination of autoantigens implicates NETosis in the induction of autoimmunity. *Annals Rheum. Dis.*, 2013, Vol. 73, no. 3, pp. 483-491.
54. Eigenbrod T., Park J.H., Harder J., Iwakura Y., Nunez G. Cutting edge: critical role for mesothelial cells in necrosis-induced inflammation through the recognition of IL-1 α released from dying cells. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 181, pp. 8194-8198.
55. Erwig L.P., Henson P.M. Immunological consequences of apoptotic cell phagocytosis. *Am. J. Pathol.*, 2007, Vol. 171, no. 1, pp. 2-8.
56. Fan F.H., Dong L.G., Ren D., Xu Y., Dou J., Wang T., Sun L., Hou Y. Activation-induced necroptosis contributes to B-cell lymphopenia in active systemic lupus erythematosus. *Cell Death Dis.*, 2014, Vol. 5, no. 9, e1416. doi: 10.1038/cddis.2014.375.
57. Fink S.L., Cookson B.T. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages. *Cell. Microbiol.*, 2006, Vol. 8, no. 11, pp. 1812-1825.
58. Fitzpatrick A.M., Holguin F., Teague W.G., Brown L.A. Alveolar macrophage phagocytosis is impaired in children with poorly controlled asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2008, Vol. 121, no. 6, pp. 1372-1378.

59. Fu R., Guo C., Wang S., Huang Y., Jin O., Haoqiang H., Chen J., Xu B., Zhou M., Zhao J., Sung S., Wang H., Gaskin F., Yang N., Fu S. Podocyte activation of NLRP3 inflammasomes contributes to the development of proteinuria in lupus nephritis. *Arthritis Rheumatol.*, 2017, Vol. 69, no. 8, pp. 1636-1646.
60. Galluzzi L., Kepp O., Chan F.K.-M., Kroemer G. Necroptosis: Mechanisms and Relevance to Disease. *Annu. Rev. Pathol.*, 2017, Vol. 12, no. 1, pp. 103-130.
61. Galluzzi L., Vitale I., Abrams J.M., Alnemri E.S., Baehrecke E.H., Blagosklonny M.V., Dawson T.M., Dawson V.L., El-Deiry W.S., Fulda S., Gottlieb E., Green D.R., Hengartner M.O., Kepp O., Knight R.A., Kumar S., Lipton S.A., Lu X., Madeo F., Malorni W., Mehlen P., Nuñez G., Peter M.E., Piacentini M., Rubinsztein D.C., Shi Y., Simon H.-U., Vandenabeele P., White E., Yuan J., Zhivotovsky B., Melino G., Kroemer G. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ.*, 2012, Vol. 19, no. 1, pp. 107-120.
62. Galluzzi L., Vitale I., Aaronson S.A., Abrams J.M., Adam D., Agostinis P., Alnemri E.S., Altucci L., Amelio I., Andrews D.W., Annicchiarico-Petruzzelli M., Antonov A.V., Arama E., Baehrecke E.H., Barlev N.A., Bazan N.G., Bernassola F., Bertrand M.J.M., Bianchi K., Blagosklonny M.V., Blomgren K., Borner C., Boya P., Brenner C., Campanella M., Candi E., Carmona-Gutierrez D., Cecconi F., Chan F.K.-M., Chandel N.S., Cheng E.H., Chipuk J.E., Cidlowski J.A., Ciechanover A., Cohen G.M., Conrad M., Cubillos-Ruiz J.R., Czabotar P.E., D'Angiolella V., Dawson T.M., Dawson V.L., de Laurenzi V., de Maria R., Debatin K.-M., DeBerardinis R.J., Deshmukh M., di Daniele N., di Virgilio F., Dixit V.M., Dixon S.J., Duckett C.S., Dynlacht B.D., El-Deiry W.S., Elrod J.W., Fimia G.M., Fulda S., García-Sáez A.J., Garg A.D., Garrido C., Gavathiotis E., Golstein P., Gottlieb E., Green D.R., Greene L.A., Gronemeyer H., Gross A., Hajnoczky G., Hardwick J.M., Harris I.S., Hengartner M.O., Hetz C., Ichijo H., Jäättelä M., Joseph B., Jost P.J., Juin P.P., Kaiser W.J., Karin M., Kaufmann T., Kepp O., Kimchi A., Kitsis R.N., Klionsky D.J., Knight R.A., Kumar S., Lee S.W., Lemasters J.J., Levine B., Linkermann A., Lipton S.A., Lockshin R.A., López-Otín C., Lowe S.W., Luedde T., Lugli E., MacFarlane M., Madeo F., Malewicz M., Malorni W., Manic G., Marine J.-C., Martin S.J., Martinou J.-C., Medema J.P., Mehlen P., Meier P., Meier S., Miao E.A., Molkentin J.D., Moll U.M., Muñoz-Pinedo C., Nagata S., Nuñez G., Oberst A., Oren M., Overholtzer M., Pagano M., Panaretakis T., Pasparakis M., Penninger J.M., Pereira D.M., Pervaiz S., Peter M.E., Piacentini M., Pinton P., Prehn J.H.M., Puthalakath H., Rabinovich G.A., Rehm M., Rizzuto R., Rodrigues C.M.P., Rubinsztein D.C., Rudel T., Ryan K.M., Sayan E., Scorrano L., Shao F., Shi Y., Silke J., Simon H.-U., Sistigu A., Stockwell B.R., Strasser A., Szabadkai G., Tait S.W.G., Tang D., Tavernarakis N., Thorburn A., Tsujimoto Y., Turk B., Berghe T.V., Vandenabeele P., Heiden M.G.V., Villunger A., Virgin H.W., Vousden K.H., Vucic D., Wagner E.F., Walczak H., Wallach D., Wang Y., Wells J.A., Wood W., Yuan J., Zakeri Z., Zhivotovsky B., Zitvogel L., Melino G., Kroemer G. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.*, 2018, Vol. 25, no. 3, pp. 486-541.
63. Gershov D., Kim S., Brot N., Elkon K.B. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J. Exp. Med.*, 2000, Vol. 192, no. 9, pp. 1353-1364.
64. Granger V., Peyneau M., Chollet-Martin S., de Chaisemartin L. Neutrophil extracellular traps in autoimmunity and allergy: immune complexes at work. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, no. 2824. doi: 10.3389/fimmu.2019.02824.
65. Gupta A.K., Giaglis S., Hasler P., Hahn S. Efficient neutrophil extracellular trap induction requires mobilization of both intracellular and extracellular calcium pools and is modulated by cyclosporine A. *PLoS One*, 2014, Vol. 9, no. 5, e97088. doi: 10.1371/journal.pone.0097088.
66. Gupta A.K., Joshi M.B., Philippova M., Erne P., Hasler P., Hahn S., Resink T.J. Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death. *FEBS Lett.*, 2010, Vol. 584, pp. 3193-3197.
67. Gutierrez K.D., Davis M.F., Daniels B.P., Olsen T.M., Ralli-Jain P., Tait S., Jr M., Oberst A. MLKL activation triggers NLRP3-mediated processing and release of IL-1 β independently of gasdermin-D. *J. Immunol.*, 2017, Vol. 198, no. 5, pp. 2156-2164.
68. Harle G., Kowalski C., Dubrot J., Brighouse D., Clavel G., Pick R., Bessis N., Niven J., Scheiermann C., Gannage M., Hugues S. Macroautophagy in lymphatic endothelial cells inhibits T cell-mediated autoimmunity. *J. Exp. Med.*, 2021, Vol. 218, no. 6, e20201776. doi: 10.1084/jem.20201776.
69. He M.X., McLeod I.X., Jia W., He Y.W. Macroautophagy in T lymphocyte development and function. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, 22. doi: 10.3389/fimmu.2012.00022.
70. Hodge S., Hodge G., Scicchitano R., Reynolds P.N., Holmes M. Alveolar macrophages from subjects with chronic obstructive pulmonary disease are deficient in their ability to phagocytose apoptotic airway epithelial cells. *Immunol. Cell Biol.*, 2003, Vol. 81, no. 4, pp. 289-296.
71. Hoffman H.M., Wanderer A. A. Inflammasome and IL-1 β -mediated disorders. *Curr. Allergy Asthma Rep.*, 2010, Vol. 10, no. 4, pp. 229-235.
72. Honarpisheh M., Desai J., Marschner J. A., Weidenbusch M., Lech M., Vielhauer V., Hans-Joachim Anders, Mulay S. R. Regulated necrosis-related molecule mRNA expression in humans and mice and in murine acute tissue injury and systemic autoimmunity leading to progressive organ damage, and progressive fibrosis. *Biosci. Rep.*, 2016, Vol. 36, no. 6, e00425. doi:10.1042/bsr20160336.
73. Jafari-Nakhjavani M.R., Abedi-Azar S., Nejadi B. Correlation of plasma interleukin-18 concentration and severity of renal involvement and disease activity in systemic lupus erythematosus. *J. Nephropathol.*, 2016, Vol. 5, no. 1, pp. 28-33.
74. Jariwala M.P., Laxer R.M. NETosis in Rheumatic Diseases. *Curr. Rheumatol. Rep.*, 2021, Vol. 23, no. 2. doi:10.1007/s11926-020-00977-6.

75. Johansson U., Walther-Jallow L., Smed-Sorensen A., Spetz A.L. Triggering of dendritic cell responses after exposure to activated, but not resting, apoptotic PBMCs. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 179, no. 3, pp. 1711-1720.
76. Jung J.Y., Koh B.R., Kim H.A., Jeon J.Y., Suh C.H. Autoantibodies to C-reactive protein in incomplete lupus and systemic lupus erythematosus. *J. Investig. Med.*, 2014, Vol. 62, no. 6, pp. 890-893.
77. Kessenbrock K., Krumbholz M., Schönermarck U., Back W., Gross W., Werb Z., Gröne H., Brinkmann V., Jenne D. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat. Med.*, 2009, Vol. 15, no. 6, pp. 623-625.
78. Kaczmarek A., Vandenabeele P., Krysko D.V. Necroptosis: The release of damage-associated molecular patterns and its physiological relevance. *Immunity*, 2013, Vol. 38, no. 2, pp. 209-223.
79. Kahlenberg J. M., Carmona-Rivera C., Smith C.K., Kaplan M. Neutrophil extracellular trap-associated protein activation of the NLRP3 inflammasome is enhanced in lupus macrophages. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 3, pp. 1217-1226.
80. Kalaaji M., Fenton K.A., Mortensen E.S., Olsen R., Sturfelt G., Alm P., Rekvig O. Glomerular apoptotic nucleosomes are central target structures for nephritogenic antibodies in human SLE nephritis. *Kidney Int.*, 2007, Vol. 71, no. 7, pp. 664-672.
81. Kaplan M. J., Apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Clin. Immunol.*, 2004, Vol. 112, no. 3, pp. 210-218.
82. Kato M., Ospelt C., Gay R.E., Gay S., Klein K. Dual role of autophagy in stress-induced cell death in rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheumatol.*, 2014, Vol. 66, no. 1, pp. 40-48.
83. Kaushik S., Massey A.C., Mizushima N., Cuervo A.M. Constitutive activation of chaperone-mediated autophagy in cells with impaired macroautophagy. *Mol. Biol. Cell*, 2008, Vol. 19, no. 5, pp. 2179-2192.
84. Kayagaki N., Warming S., Lamkanfi M., Vande Walle L., Louie S., Dong J., Newton K., Qu Y., Liu J., Heldens S., Zang J., Lee W., Roose-Girma M., Dixit V. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature*, 2011, Vol. 479, pp. 117-121.
85. Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A. R. Apoptosis: A Basic Biological Phenomenon with Wideranging Implications in Tissue Kinetics. *Br. J. Cancer*, 1972, Vol. 26, no. 4, pp. 239-257.
86. Kessenbrock K., Krumbholz M., Schönermarck U., Back W., Gross W.L., Werb Z., Gröne H., Brinkmann V., Jenne D. Netting neutrophils in autoimmune small-vessel vasculitis. *Nat. Med.*, 2009, Vol. 15, no. 6, pp. 623-625.
87. Khandpur R., Carmona-Rivera C., Vivekanandan-Giri A., Gizinski A., Yalavarthi S., Knight J.S., Friday S., Li S., Patel R.M., Subramanian V., Thompson P., Chen P., Fox D.A., Pennathur S., Kaplan M.J. NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis. *Sci. Transl. Med.*, 2013, Vol. 5, no. 178, 178ra40. doi:10.1126/scitranslmed.3005580.
88. Khoury M.K., Gupta K., Franco S.R., Liu B. Necroptosis in the pathophysiology of disease. *Am. J. Pathol.*, 2020, Vol. 190, no. 2, pp. 272-285.
89. Kobayashi K., Kaneda K., Kasama T. Immunopathogenesis of delayed-type hypersensitivity. *Microsc. Res. Tech.*, 2001, Vol. 53, no. 4, pp. 241-245.
90. Kobayashi N., Karisola P., Pena-Cruz V., Dorfman D.M., Jinushi M., Umetsu S.E., Butte M.J., Nagumo H., Chernova I., Zhu B., Sharpe A.H., Ito S., Dranoff G., Kaplan G.G., Casasnovas J.M., Umetsu D.T., Dekruyff R.H., Freeman G. TIM-1 and TIM-4 glycoproteins bind phosphatidylserine and mediate uptake of apoptotic cells. *Immunity*, 2007, Vol. 27, no. 6, pp. 927-940.
91. Kolly L., Busso N., Palmer G., Talabot-Ayer D., Chobaz V., So A. Expression and function of the NALP3 inflammasome in rheumatoid synovium. *Immunology*, 2010, Vol. 129, no. 2, pp. 178-185.
92. Kono H., Karmarkar D., Iwakura Y., Rock K.L. Identification of the cellular sensor that stimulates the inflammatory response to sterile cell death. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 184, no. 8, pp. 4470-4478.
93. Kovacs J.R., Li C., Yang Q., Li G., Garcia I.G., Ju S., Roodman D.G., Windle J.J., Zhang X., Lu B. Autophagy promotes T-cell survival through degradation of proteins of the cell death machinery. *Cell Death Differ.*, 2012, Vol. 19, no. 1, pp. 144-152.
94. Krainer J., Siebenhandl S., Weinhäusel A. Systemic autoinflammatory diseases. *J. Autoimmun.*, 2020, 102421. doi:10.1016/j.jaut.2020.102421.
95. Kril I., Havrylyuk A., Potomkina H., Chopyak V. Apoptosis and secondary necrosis of neutrophils and monocytes in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis: a cohort study. *Rheumat.Int.*, 2020, Vol. 40, Iss. 9, pp. 1449-1454.
96. Kroemer G.R., Galluzzi L., Vandenabeele P., Abrams J., Alnermi E.S., Baehrecke E.H., Blagosklonny M.V., El-Deiry W.S., Golstein P., Green D.R., Hengartner M., Knight R.A., Kumar S., Lipton S.A., Malorni W., Núñez G., Peter M.E., Tschopp J., Yuan J., Piacentini M., Zhivotovsky B., Melino G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death. *Cell Death Differ.*, 2009, Vol. 16, no. 1, pp. 3-11.
97. Krysko D.V., Denecker G., Festjens N., Gabriels S., Parthoens E., D'Herde K., Vandenabeele P. Macrophages use different internalization mechanisms to clear apoptotic and necrotic cells. *Cell Death Differ.*, 2006, Vol. 13, no. 12, pp. 2011-2022.
98. Lamkanfi M., Sarkar A., Vande Walle L., Vitari A.C., Amer A.O., Wewers M.D., Tracey K.J., Kanneganti T.D., Dixit V.M. Inflammasome-dependent release of the alarmin HMGB1 in endotoxemia. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 185, no. 7, pp. 4385-4392.
99. Laster S.M., Wood J.G., Gooding L.R. Tumor necrosis factor can induce both apoptotic and necrotic forms of cell lysis. *J. Immunol.*, 1988, Vol. 141, no. 8, pp. 2629-2634.
100. Lauber K., Bohn E., Kröber S.M., Xiao Y.J., Blumenthal S.G., Lindemann R.K., Marini P., Wiedig C., Zobywalski A., Baksh S., Xu Y., Autenrieth I., Schulze-Jstho K., Belka C., Stuhler G., Wesselborg S. Apoptotic cells induce migration of phagocytes via caspase-3-mediated release of a lipid attraction signal. *Cell*, 2003, Vol. 113, no. 6, pp. 717-730.
101. Lawlor K.E., Khan N., Mildenhallet A., Gerlic M., Croker B.A., Dcuz A.A., Hall C., Spall S.K., Anderton H., Masters S.L., Rashidi M., Wicks I.P., Alexander W.S., Mitsuchi Y., Benetatos C.A., Condon S.M., Wong W.W.-L.,

Silke J., Vaux D.L., Vince J. RIPK3 promotes cell death and NLRP3 inflammasome activation in the absence of MLKL. *Nat. Commun.*, 2015, Vol. 6, 6282. doi: 10.1038/ncomms7282.

102. Lee J.W., Epardaud M., Sun J., Becker J.E., Cheng A.C., Yonekura A., Heath J.K., Turley S.J. Peripheral antigen display by lymph node stroma promotes T cell tolerance to intestinal self. *Nat. Immunol.*, 2007. Vol. 8, no. 2, pp. 181-190.

103. Leffler J., Gullstrand B., Jonsen A., Nilsson J.A., Martin M., Blom A.M., Bengtsson A. Degradation of neutrophil extracellular traps covaries with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.*, 2013, Vol. 15, no. 4, R84. doi:10.1186/ar4264.

104. Levine B., Mizushima N., Herbert W. Virgin Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*, 2011, Vol. 469, pp. 323-334.

105. Li J., McQuade T., Siemer A., Napetschnig J., Moriwaki K., Hsiao Y., Damko E., Moquin D., Walz T., McDermott A., Chan F., Wu H. The RIP1/RIP3 necrosome forms a functional amyloid signaling complex required for programmed necrosis. *Cell*, 2012, Vol. 150, no. 2, pp. 339-350.

106. Li W., Yang Q., Mao Z. Chaperone-mediated autophagy: machinery, regulation and biological consequences. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2011, Vol. 68, no. 5, pp. 749-763.

107. Li Y., Shen Y., Jin K., Wen Z., Cao W., Wu B., Wen R., Tian L., Berry G., Goronzy J., Weyand C.M. The DNA repair nuclease MRE11A functions as a mitochondrial protector and prevents T cell pyroptosis and tissue inflammation. *Cell Metab.*, 2019, Vol. 30, no. 3, pp. 477-492.

108. Liberale L., Carbone F., Vecchié A., Diaz-Cañestro C., Camici G., Montecucco F., Dallegri F., Bonaventura A. The pathophysiological role of neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases. *Thromb. Haemost.*, 2018, Vol. 118, no. 1, pp. 6-27.

109. Lin N.Y., Beyer C., Giessel A., Kireva T., Scholtyssek C., Uderhardt S., Enrique L., Munoz E.L., Dees C., Distler A., Wirtz S., Kronke G., Spenser B., Distler O., Schett G., Distler J.H. Autophagy regulates TNF α -mediated joint destruction in experimental arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2013, Vol. 72, no. 5, pp. 761-768.

110. Lleo A., Selmi C., Invernizzi P., Podda M., Gershwin M. E. The consequences of apoptosis in autoimmunity. *J. Autoimmun.*, 2008, Vol. 31, no. 3, pp. 257-262.

111. Lood C., Blanco L.P., Pumalike M.M., Carmona-Rivera C., de Ravin S., Smith C., Malech H., Ledbetter J., Elkon K., Kaplan M. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease. *Nat. Med.*, 2016, Vol. 22, no. 2, pp. 146-153.

112. Lopalco G., Cantarini L., Vitale A., Iannone F., Anelli M. G., Andreozzi L., Lapadula G., Galeazzi M., Rigante D. Interleukin-1 as a common denominator from autoinflammatory to autoimmune disorders: premises, perils, and perspectives. *Mediators Inflamm.*, 2015, Vol. 2015, 194864. doi:10.1155/2015/194864

113. Ludemann J., Utecht B., Gross W.L. Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis recognize an elastolytic enzyme. *J. Exp. Med.*, 1990, Vol. 171, pp. 357-362.

114. Luo X.Y., Yuan J.L., Liuetal J. Increased macroautophagy in interferon-gamma-producing T cells from patients with newly diagnosed systemic lupus erythematosus. *Chin. Med. J.*, 2018, Vol. 131, no. 13, pp. 1527-1532.

115. Maeda A., Fadeel B. Mitochondria released by cells undergoing TNF- α -induced necroptosis act as danger signals. *Cell Death Dis.*, 2014, Vol. 5, no. 7, e1312. doi: 10.1038/cddis.2014.277.

116. Martin S.J., Henry C.M., Cullen S.P. A perspective on mammalian caspases as positive and negative regulators of inflammation. *Mol. Cell*, 2012, Vol. 46, no. 4, pp. 387-397.

117. Martinod K., Wiltsch T., Farley K., Gallant M., Remold-Donnell E., Wagner D. Neutrophil elastase-deficient mice form neutrophil extracellular traps in an experimental model of deep vein thrombosis. *J. Thromb. Haemost.*, 2016, Vol. 14, no. 3, pp. 551-558.

118. Masters S.L., Simon A., Aksentijevich I., Kastner D.L. Horror autoinflammaticus: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annu. Rev. Immunol.*, 2009, Vol. 27, pp. 621-668.

119. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science*, 2002, Vol. 296, pp. 301-305.

120. Mayes M.D., Bossini-Castillo L., Gorlova O., Martin J.E., Zhou X., Chen W.V., Assassi S., Ying J., Tan F.K., Arnett F.C., Reveille J.D., Guerra S., Teruel M., Carmona F.D., Gregersen P.K., Lee A.T., López-Isac E., Ochoa E., Carreira P., Simeón C.P., Castellví I., González-Gay M.A., Spanish Scleroderma Group; Zhernakova A., Padyukov L., Alarcón-Riquelme M., Wijmenga C., Brown M., Beretta L., Riemekasten G., Witte T., Hunzelmann N., Kreuter A., Distler J.H.W., Voskuyl A.E., Schuerwegh A.J., Hesselstrand R., Nordin A., Airó P., Lunardi C., Shiels P., van Laar J.M., Herrick A., Worthington J., Denton C., Wigley F.M., Hummers L.K., Varga J., Hinchcliff M.E., Baron M., Hudson M., Pope J.E., Furst D.E., Khanna D., Phillips K., Schiopu E., Segal B.M., Molitor J.A., Silver R.M., Steen V.D., Simms R.W., Lafyatis R.A., Fessler B.J., Frech T.M., Alkassab F., Docherty P., Kaminska E., Khalidi N., Jones H.N., Markland J., Robinson D., Broen J., Radstake T.R.D.J., Fonseca C., Koeleman B.P., Martin J. Immunochip analysis identifies multiple susceptibility loci for systemic sclerosis. *Am. J. Hum. Genet.*, 2014, Vol. 94, no. 1, pp. 47-61.

121. McGonagle D., McDermott M.F. A proposed classification of the immunological diseases. *PLoS Med.*, 2006, Vol. 3, no. 8, e297. doi:10.1371/journal.pmed.0030297.

122. McLeod I.X., He Y. Roles of autophagy in lymphocytes: reflections and directions. *Cell. Mol. Immunol.*, 2010, Vol. 7, no. 2, pp. 104-107.

123. McIlroy D.J., Jarnicki A.G., Au G.G., Lott N., Smith D., Hansbro P., Balogh Z. Mitochondrial DNA neutrophil extra cellular traps are formed after trauma and subsequent surgery. *J. Crit. Care*, 2014, Vol. 29, no. 6, 1133.e1-e5. doi: 10.1016/j.jcrc.2014.07.013.

124. Mehrpour M., Esclatine A., Beau I., Codogno P. Overview of macroautophagy regulation in mammalian cells. *Cell Res.*, 2010, Vol. 20, no. 7, pp. 748-762.

125. Metzler K.D., Goosmann C., Lubojemska A., Zychlinsky A., Papayannopoulos V. A myeloperoxidase-containing complex regulates neutrophil elastase release and actin dynamics during NETosis. *Cell Rep.*, 2014, Vol. 8, no. 3, pp. 883-896.

126. Mijaljica D., Prescott M., Devenish R.J. Microautophagy in mammalian cells: revisiting a 40-year-old conundrum. *Autophagy*, 2011, Vol. 7, no. 7, pp. 673-682.
127. Mitchell J.S., Li N., Weinhold N., Forsti A., Ali M., van Duin M., Thorleifsson G., Johnson D.C., Chen B., Halvarsson B.-M., Gudbjartsson D.F., Kuiper R., Stephens O.W., Bertsch U., Broderick P., Campo C., Einsele H., Gregory W.A., Gullberg U., Henrion M., Hillengass J., Hoffmann P., Jackson G.H., Johnsson E., Jöud M., Kristinsson S.Y., Lenhoff S., Lenive O., Mellqvist U.-H., Migliorini G., Nahi H., Nelander S., Nickel J., Nöthen M.M., Rafnar T., Ross F.M., da Silva Filho M.I., Swaminathan B., Thomsen H., Turesson I., Vangsted A., Vogel U., Waage A., Walker B.A., Wihlborg A.-K., Broyl A., Davies F.E., Thorsteinsdottir U., Langer C., Hansson M., Kaiser M., Sonneveld P., Stefansson K., Morgan G.J., Goldschmidt H., Hemminki K., Nilsson B., Houlston R. Genome-wide association study identifies multiple susceptibility loci for multiple myeloma. *Nat. Commun.*, 2016, Vol. 7, 12050. doi: 10.1038/ncomms12050.
128. Mizushima N. Autophagy: process and function. *Genes Dev.*, 2007, Vol. 21, no. 22, pp. 2861-2873.
129. Mizushima N., Klionsky D.J. Protein turnover via autophagy: implications for metabolism. *Annu. Rev. Nutr.*, 2007, Vol. 27, pp. 19-40.
130. Mizushima N., Yoshimori T., Levine B. Methods in mammalian autophagy research. *Cell*, 2010, Vol. 140, no. 3, pp. 313-326.
131. Mocarski E.S., Upton J.W., Kaiser W.J. Viral infection and the evolution of caspase 8-regulated apoptotic and necrotic death pathways. *Nat. Rev. Immunol.*, 2011, Vol. 12, no. 2, pp. 79-88.
132. Mohr W., Westerhellweg H., Wessinghage D. Polymorphonuclear granulocytes in rheumatic tissue destruction. III. An electron microscopic study of PMNs at the pannus-cartilage junction in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 1981, Vol. 40, 396-399.
133. Mosser D.M., Edwards J.P. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008, Vol. 8, no. 12, pp. 958-969.
134. Munoz L.E., Lauber K., Schiller M., Manfredi A.A., Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2010, Vol. 6, no. 5, pp. 280-289.
135. Munoz L., van Bavel C., Franz S., Berden J., Herrmann M., van der Vlag J. Apoptosis in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2008, Vol. 17, no. 5, pp. 371-375.
136. Münz C. Autophagy and antigen presentation. *Cell. Microbiol.*, 2006, Vol. 8, no. 6, pp. 891-898.
137. Munz C. Antigen processing via autophagy – not only for MHC class II presentation anymore? *Curr. Opin. Immunol.*, 2010, Vol. 22, pp. 89-93.
138. Muruve D.A., Petrilli V., Zaiss A., White L., Clark S., Ross P., Parks R., Tschoop J. The inflammasome recognizes cytosolic microbial and host DNA and triggers an innate immune response. *Nature*, 2008, Vol. 452, pp. 103-107.
139. Nagata S. Apoptosis and clearance of apoptotic cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2018, Vol. 36, pp. 489-517.
140. Nagy G., Barcza M., Gonchoroff N., Phillips P.E., Perl A. Nitric oxide-dependent mitochondrial biogenesis generates Ca^{2+} signaling profile of lupus T cells. *J. Immunol.*, 2004, Vol. 173, no. 6, pp. 3676-3683.
141. Ning X., Wang Y., Jingetal M. Apoptotic caspases suppress type I interferon production via the cleavage of cGAS, MAVS, and IRF3. *Mol. Cell*, Vol. 74, no. 1, pp. 19-31.
142. Oppenheim J.J., Yang D. Alarmins: chemotactic activators of immune responses. *Curr. Opin. Immunol.*, 2005, Vol. 17, no. 4, pp. 359-365.
143. Panaretakis T., Kepp O., Brockmeier U., Tesniere A., Bjorklund A.C., Chapman D.C., Durchschlag M., Joza N., Pierron G., van Ender, P., Yuan J., Zitvogel L., Madeo F., Williams D., Kroemer G. Mechanisms of preapoptotic calreticulin exposure in immunogenic cell death. *EMBO J.*, 2009, Vol. 28, no. 5, pp. 578-590.
144. Park S.Y., Jung M.Y., Kim H.J., Lee S.J., Kim S.Y., Lee B.H., Kwon T., Park R., Kim I. Rapid cell corpse clearance by stabilin-2, a membrane phosphatidylserine receptor. *Cell Death Differ.*, 2008, Vol. 15, no. 1, pp. 192-201.
145. Pasparakis M., Vandenabeele P. Necroptosis and its role in inflammation. *Nature*, 2015, Vol. 517, no. 7534, pp. 311-320.
146. Pierdominici M., Vomero M., Barbati C., Colasanti T., Maselli A., Vacirca D., Giovannetti A., Malorni W., Ortona E. Role of autophagy in immunity and autoimmunity, with a special focus on systemic lupus erythematosus. *FASEB J.*, 2012, Vol. 26, no. 4, pp. 1400-1412.
147. Pisetsky D.S., Erlandsson-Harris H., Andersson U. High-mobility group box protein 1 (HMGB1): an alarmin mediating the pathogenesis of rheumatic disease. *Arthritis Res. Ther.*, 2008, Vol. 10, no. 3, 209. doi:10.1186/ar2440.
148. Pua H.H., He Y.W. Maintaining T lymphocyte homeostasis: another duty of autophagy. *Autophagy*, 2007, Vol. 3, no. 3, pp. 266-267.
149. Pua H.H., Guo J., Komatsu M., He Y.W. Autophagy is essential for mitochondrial clearance in mature T lymphocytes. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 182, no. 7, pp. 4046-4055.
150. Puri A.W., Broz P., Shen A., Monack D.M., Bogoy M. Caspase-1 activity is required to bypass macrophage apoptosis upon Salmonella infection. *Nat. Chem. Biol.*, 2012, Vol. 8, no. 9, pp. 745-747.
151. Radic M. Clearance of apoptotic bodies, NETs, and Biofilm DNA: implications for autoimmunity. *Front. Immunol.*, 2014, Vol. 5, 365. doi: 10.3389/fimmu.2014.00365.
152. Radic M., Herrmann M.J., van der Vlag J., Rekvig O.P. Regulatory and pathogenetic mechanisms of autoantibodies in SLE. *Autoimmunity*, 2011, Vol. 44, no. 5, pp. 349-356.
153. Ren Y., Tang J., Mok M.Y., Chan A.W., Wu A., Lau C.S. Increased apoptotic neutrophils and macrophages and impaired macrophage phagocytic clearance of apoptotic neutrophils in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 2003, Vol. 48, no. 10, pp. 2888-2897.
154. Riedl S.J., Salvesen G.S. The apoptosome: signalling platform of cell death. *Nat. Rev.*, 2007, Vol. 8, no. 5, pp. 405-413.

155. Rizzo C., Grasso G., Castaniti G., Ciccio F., Guggino G. Primary sjogren syndrome: focus on innate immune cells and inflammation. *Vaccines*, 2020, Vol. 8, no. 2, pp. 1-23.
156. Roberts T.L., Idris A., Dunn J.A., Kelly G.M., Burnton C.M., Hodgson S., Hardy L.L., Garceau V., Sweet M.J., Ross L.I., Hume A.D., Stacey J.K. HIN-200 proteins regulate caspase activation in response to foreign cytoplasmic DNA. *Science*, 2009, Vol. 323, no. 5917, pp. 1057-1060.
157. Robinson N., McComb S., Mulligan R., Dudani R., Krishnan L., Sad S. Type I interferon induces necroptosis in macrophages during infection with *Salmonella enterica*, serovar Typhimurium. *Nat. Immunol.*, 2012, Vol. 13, no. 10, pp. 954-962.
158. Rock K.L., Kono H. The inflammatory response to cell death. *Annu. Rev. Pathol.*, 2008, Vol. 3, pp. 99-126.
159. Rock K.L., Latz E., Ontiveros F., Kono H. The sterile inflammatory response. *Annu. Rev. Immunol.*, 2010, Vol. 28, pp. 321-342.
160. Rubartelli A., Poggi A., Zocchi M.R. The selective engulfment of apoptotic bodies by dendritic cells is mediated by the $\alpha(v)\beta3$ integrin and requires intracellular and extracellular calcium. *Eur. J. Immunol.*, 1997, Vol. 27, no. 8, pp. 1893-1900.
161. Sangaletti S., Tripodo C., Chiodoni C., Guarnotta C., Cappetti B., Casalini P., Piconese S., Parenza M., Guiducci C., Vitali C., Colombo M. Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells toward ANCA induction and associated autoimmunity. *Blood*, 2012, Vol. 120, no. 15, pp. 3007-3018.
162. Sarhan J., Liu B.C., Muendleinetal H.I. Constitutive interferon signaling maintains critical threshold of MLKL expression to license necroptosis. *Cell Death Differ.*, 2019, Vol. 26, no. 2, pp. 332-347.
163. Schauer C., Janko C., Munoz L.E., Zhao Y., Kienhofer D., Frey B., Lell M., Manger B., Rech J., Naschberger E., Holmdahl R., Krenn V., Harrer T., Jeremic I., Bilyy R., Schett G., Hoffmann M., Herrmann M. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines. *Nat. Med.*, 2014, Vol. 20, no. 5, pp. 511-517.
164. Schmid D., Pypaert M., Munz C. Antigen-loading compartments for major histocompatibility complex class II molecules continuously receive input from autophagosomes. *Immunity*, 2007, Vol. 26, no. 1, pp. 79-92.
165. Schorn C., Janko C., Latzko M., Chaurio R., Schett G., Herrmann M. Monosodium urate crystals induce extracellular DNA traps in neutrophils, eosinophils, and basophils but not in mononuclear cells. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, 277. doi: 10.3389/fimmu.2012.00277.
166. Sciorati C., Rigamonti E., Manfredi A.A., Rovere-Querini P. Cell death, clearance and immunity in the skeletal muscle. *Cell Death Differ.*, 2016, Vol. 23, no. 6, pp. 927-937.
167. Shin M.S., Kang Y., Lee N., Wahl R., Kim S., Kang K., Lazova R., Kang I. Self double-stranded (ds)DNA induces IL-1 β production from human monocytes by activating NLRP3 inflammasome in the presence of anti-dsDNA antibodies. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 4, pp. 1407-1415.
168. Shin M.S., Kang Y., Wahl E.R., Park H., Lasova R., Leng L., Mamula M., Krishnaswamy S., Bucala R., Kang I. Macrophage Migration Inhibitory Factor Regulates U1 Small Nuclear RNP Immune Complex-Mediated Activation of the NLRP3 Inflammasome. *Arthritis Rheumatol.*, 2019, Vol. 71, no. 1, pp. 109-120.
169. Siegert C., Daha M., Westedt M.L., van der Voort E., Breedveld F. IgG autoantibodies against C1q are correlated with nephritis, hypocomplementemia, and dsDNA antibodies in systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.*, 1991, Vol. 18, no. 2, pp. 230-234.
170. Silke J., Rickard J.A., Gerlic M. The diverse role of RIP kinases in necroptosis and inflammation. *Nat. Immunol.*, 2015, Vol. 16, no. 7, pp. 689-697.
171. Spengler J., Lugonia B., Ytterberg A.J., Zubarev R.A., Creese A.J., Pearson M.J., Grant M.M., Milward M., Lundberg K., Buckley C.D., Filer A., Raza K., Cooper P.R., Chapple I.L., Scheel-Toellner D. Release of active peptidyl arginine deiminases by neutrophils can explain production of extracellular citrullinated autoantigens in rheumatoid arthritis synovial fluid. *Arthritis Rheumatol.*, 2015, Vol. 67, no. 12, pp. 3135-3145.
172. Sutterwala F.S., Ogura Y., Szczepanik M., Lara-Tejero M., Lichtenberger G.S., Grant E. P., Bertin J., Coyle A.J., Galan J.E., Askenase P.W., Fravell R.A. Critical role for NALP3/CIA1/Cryopyrin in innate and adaptive immunity through its regulation of caspase-1. *Immunity*, 2006, Vol. 24, no. 3, pp. 317-327.
173. Sutton C.E., Lator S.J., Sweeney C.M., Brereton C.F., Lavelle E.C., Mills K.H. Interleukin-1 and IL-23 induce innate IL-17 production from $\gamma\delta$ -T cells, amplifying Th17 responses and autoimmunity. *Immunity*, 2009, Vol. 31, no. 2, pp. 331-341.
174. Takeshige K., Baba M., Tsuboi S., Noda T., Ohsumi Y. Autophagy in yeast demonstrated with proteinase-deficient mutants and conditions for its induction. *J. Cell Biol.*, 1992, Vol. 119, no. 2, pp. 301-311.
175. Tanaka T., Warner B.M., Odani T., Ji Y., Mo Y.-Q., Nakamura H., Jang S.-I., Yin H., Michael D.G., Hirata N., Suizu F., Ishigaki S., Oliveira F.R., Motta A.C.F., Ribeiro-Silva A., Rocha E.M., Atsumi T., Noguchi M., Chiorini J.A. LAMP3 induces apoptosis and autoantigen release in Sjögren's syndrome patients. *Sci. Rep.*, 2020, Vol. 10, no. 1, 15169. doi:10.1038/s41598-020-71669-5
176. Tang S., Zhang Y., Yin S.W., Gao X., Shi W., Wang Y., Huahg X., Wang L., Zou L., Zhao J., Huang Y., Shan L., Gounni A., Wu Y., Zhang J. Neutrophil extracellular trap formation is associated with autophagy-related signalling in ANCA-associated vasculitis. *Clin. Exp. Immunol.*, 2015, Vol. 180, no. 3, pp. 408-418.
177. Taylor R.C., Cullen S.P., Martin S.J. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2008, Vol. 9, no. 3, pp. 231-241.
178. Tillack K., Breiden P., Martin R., Sospedra M. T lymphocyte priming by neutrophil extracellular traps links innate and adaptive immune responses. *J. Immunol.*, 2012, Vol. 188, no. 7, pp. 3150-3159.
179. Tsuchiya K. Switching from apoptosis to pyroptosis: gasdermin-elicited inflammation and antitumor immunity. *International J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 1, 426. doi:10.3390/ijms22010426.

180. Urban C.F., Reichard U., Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. *Cell Microbiol.*, 2006, Vol. 8, no. 4, pp. 668-676.
181. Valesini G., Gerardi M.C., Iannuccelli C., Pacucci V., Pendolino M., Shoenfeld Y. Citrullination and autoimmunity. *Autoimmun. Rev.*, 2015, Vol. 14, no. 6, pp. 490-497.
182. Vandanmagsar B., Youm Y.H., Ravussin A., Galgani J.E., Stadler K., Mynatt R.L., Ravussin E., Stephens J.M., Dixit V.D. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat. Med.*, 2011, Vol. 17, no. 2, pp. 179-188.
183. Vande Walle L., Lamkanfi M. Pyroptosis. *Curr. Biol.*, 2016, Vol. 26, no. 13, pp. R568-R572.
184. Vandivier R.W., Fadok V.A., Ogden C.A., Hoffmann P.R., Brain J.D., Accurso F.J. Impaired clearance of apoptotic cells from cystic fibrosis airways. *Chest*, 2002, Vol. 121, Iss. 3 Suppl., 89S. doi: 10.1378/chest.121.3_suppl.89S.
185. Voll R.E., Herrmann M., Roth E.A., Stach C., Kalden J.R., Girkontaite I. Immunosuppressive effects of apoptotic cells. *Nature*, 1997, Vol. 390, no. 6658, pp. 350-351.
186. Wu M.-Y., Lu J.-H. Autophagy and macrophage functions: inflammatory response and phagocytosis. *Cells*, 2020, Vol. 9, no. 1, 70. doi:10.3390/cells9010070.
187. Wu X., Li K., Yang H., Yang B., Lu X., Zhao L., Fei Y.-Y., Chen H., Wang L., Li J., Peng L.-Y., Zheng W.-J., Hou Y., Jiang Y., Shi Q., Zhang W., Zhang F.-C., Zhang J.-M., Huang B., He W., Zhang X. Complement C1q synergizes with PTX3 in promoting NLRP3 inflammasome over-activation and pyroptosis in rheumatoid arthritis. *J. Autoimmun.*, 2019, 102336. doi:10.1016/j.jaut.2019.102336.
188. Wu X., Ren G., Zhou R., Ge J., Chen F.-H. The role of Ca²⁺ in acid-sensing ion channel 1a-mediated chondrocyte pyroptosis in rat adjuvant arthritis. *Laboratory Investigation*, 2019, Vol. 99, no. 4, pp. 499-513.
189. Xie L., Xu J. Role of MiR-98 and its underlying mechanisms in systemic lupus erythematosus. *The Journal of Rheumatology*, 2018, Vol. 45, no. 10, pp. 1397-1405.
190. Xu J., Jiang Y., Wang J., Shi X., Liu Q., Liu Z., Fan J. Macrophage endocytosis of high-mobility group box 1 triggers pyroptosis. *Cell Death Differ.*, 2014, Vol. 21, no. 8, pp. 1229-1239.
191. Xu Y., Jagannath C., Liu X.-D., Sharafkhaneh A., Kolodziejska K., Eissa T. Toll-like Receptor 4 is a sensor for autophagy associated with innate immunity. *Immunity*, 2007, Vol. 27, no. 1, pp. 135-144.
192. Yang F., He Y., Zhai Z., Sun E. Programmed cell death pathways in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J. Immunol. Res.*, 2019, 3638562. doi:10.1155/2019/3638562.
193. Yang Y., Jiang G., Zhang P., Fan J. Programmed cell death and its role in inflammation. *Mil. Med. Res.*, 2015, Vol. 2, 12. doi:10.1186/s40779-015-0039-0.
194. Yao Z., Delorme-Axford E., Backues S.K., Klionsky D.J. Atg41/Icy2 regulates autophagosome formation. *Autophagy*, 2015, Vol. 11, pp. 2288-2299. doi: 10.1080/15548627.2015.1107692.
195. Ye X., Zhou X.-J., Zhang H. Exploring the role of autophagy-related gene 5 (ATG5) yields important insights into autophagy in autoimmune / autoinflammatory diseases. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, 2334. doi: 10.3389/fimmu.2018.02334.
196. Yipp B.G., Kubes P. NETosis: how vital is it? *Blood*, 2013, Vol. 122, no. 16, pp. 2784-2794.
197. Zhang D.W., Shao J., Lin J., Zhang N., Lu B.J., Lin S.C., Dong M.Q., Han J. RIP3, an energy metabolism regulator that switches TNF-induced cell death from apoptosis to necrosis. *Science*, 2009, Vol. 325, pp. 332-336.
198. Zhang S., Lu X., Shu X., Tian X., Yang H., Yang W., Zhang Y., Wang G. Elevated plasma cfDNA may be associated with active lupus nephritis and partially attributed to abnormal regulation of neutrophil extracellular traps (NETs) in patients with systemic lupus erythematosus. *Intern. Med.*, 2014, Vol. 53, no. 24, pp. 2763-2771.
199. Zhao J., Jitkaew S., Cai Z., Choksi S., Li Q., Luo J., Liu, Z.G. Mixed lineage kinase domain-like is a key receptor interacting protein 3 down-stream component of TNF-induced necrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, Vol. 109, no. 14, pp. 5322-5327.
200. Zhou X.J., Lu X.L., Lv J.C., Yang H.Z., Qin L.X., Zhao M.H., Su Y., Li Z., Zhang H. Genetic association of PRDM1-ATG5 intergenic region and autophagy with systemic lupus erythematosus in a Chinese population. *Ann. Rheum. Dis.*, 2011, Vol. 70, no. 7, pp. 1330-1337.
201. Zhu L., Wang H., Wu Y., He Z., Qin Y., Shen Q. The autophagy level is increased in the synovial tissues of patients with active rheumatoid arthritis and is correlated with disease severity. *Mediators Inflamm.*, 2017, Vol. 2017, 7623145. doi: 10.1155/2017/7623145.
202. Zickert A., Palmblad K., Sundelin B., Chavan S., Tracey K., Bruchfeld A., Gunnarsson I. Renal expression and serum levels of high mobility group box 1 protein in lupus nephritis. *Arthritis Res. Ther.*, 2012, Vol. 14, no. 1, R36. doi: 10.1186/ar3747.
203. Zoncu R., Efeyan A., Sabatini D.M. mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, 2011, Vol. 12, no. 1, pp. 21-35.

Автор:

Саидов М.З. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия

Author:

Saidov M.Z., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Pathological Physiology, Dagestan State Medical University, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russian Federation

Поступила 28.02.2022

Принята к печати 28.03.2022

Received 28.02.2022

Accepted 28.03.2022