

Роль дисфункции митохондрий и лизосом в патогенезе острого панкреатита

Ю.В. Евсютина², В.Т. Ивашкин^{1,2}, Э.З. Абгаджав³

¹Кафедра пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

²НИО инновационной терапии ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава РФ, Москва, Российская Федерация

³Республиканская больница г. Сухум

Role of mitochondrial and lysosomal dysfunction in acute pancreatitis pathogenesis

Yu.V. Yevsyutina², V.T. Ivashkin^{1,2}, E.Z. Abgadzava³

¹ Chair of internal diseases propedeutics, medical faculty, State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university», Ministry of healthcare Russian Federation, Moscow, Russian Federation

² Scientific and educational clinical center of innovative therapy, State educational government-financed institution of higher professional education «Sechenov First Moscow state medical university», Ministry of healthcare Russian Federation, Moscow, Russian Federation

³ Sukhumi Republic hospital

Цель обзора. Представить данные о роли дисфункции митохондрий и лизосом в патогенезе острого панкреатита (ОП).

Основные положения. Основными патоморфологическими признаками ОП являются: гиперамилаземия, преждевременная интраацинарная активация пищеварительных ферментов, накопление крупных вакуолей в ацинарных клетках, активация провоспалительных медиаторов, гибель ацинарных клеток путем апоптоза и некроза. Дисфункция митохондрий, развивающаяся при остром панкреатите, сопровождается нарушением синтеза АТФ и инициацией процессов апоптоза и некроза. Дисфункция лизосом при ОП проявляется нарушением аутофагии, что приводит к вакуолизации ацинарных клеток и интраацинарному накоплению трипсина.

Заключение. В последнее время отмечаются рост заболеваемости острым панкреатитом и повышение смертности у пациентов с панкреонекрозом. Нарушение функции митохондрий и лизосом

Aim of review. To present data on the role of mitochondrial and lysosomal dysfunction in pathogenesis of acute pancreatitis (AP).

Summary. Hyperamilasemia, premature intralobular activation of digestive enzymes, accumulation of large vacuoles in acinar cells, activation of proinflammatory mediators, apoptosis and necrosis of acinar cells are the basic pathomorphological signs of AP. The mitochondrial dysfunction that develops at acute pancreatitis is followed by disorders of ATP synthesis and initiation of processes of apoptosis and necrosis. The lysosomal dysfunction at AP is manifested by autophagy disorders that leads to vacuolation of acinar cells and intralobular trypsin accumulation.

Conclusion. At the recent time there is noticeable growth in frequency of acute pancreatitis cases and increase of mortality in patients with pancreatic necrosis. Mitochondrial and lysosomal dysfunction acts as pathogenic basis for AP, leading to energy deprivation of pancreatic cells. Mitochondrial and lysosomal

Евсютина Юлия Викторовна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник НИО инновационной терапии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова». Контактная информация: uselina@mail.ru; 119991, Москва, ул. Погодинская, д. 1, стр. 1. Клиника пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и гепатологии им. В.Х. Василенко ПМГМУ им. И.М. Сеченова

Yevsyutina Yuliya V. — MD, research associate, Scientific and educational clinical center of innovative therapy, Sechenov First Moscow state medical university. Contact information: uselina@mail.ru; 119991, Moscow, Pogodinskaya str., 1, bld 1. Vasilenko Clinic of internal diseases propedeutics, gastroenterology and hepatology. Sechenov First Moscow state medical university.

Ивашкин Владимир Трофимович — академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», директор НИО инновационной терапии ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова»

составляет патогенетическую основу ОП, приводя к деэнергизации клеток поджелудочной железы. Дисфункция митохондрий и лизосом инициирует при рассматриваемой патологии процессы апоптоза, некроза, активацию трипсиногена и вакуолизацию ацинарных клеток. Необходимо проведение новых исследований, целью которых будет разработка стратегий терапевтического воздействия на митохондрии и лизосомы.

Ключевые слова: острый панкреатит, дисфункция органелл, митохондрия, лизосома, апоптоз, некроз, аутофагия.

Острый панкреатит (ОП) представляет собой воспалительное заболевание с высокой частотой летальных исходов. Заболеваемость в мире составляет в среднем от 5 до 80 случаев на 100 000 человек [1–3]. Самые высокие показатели отмечаются в США, Австралии и Финляндии — примерно 73,4 случая на 100 000 населения, тогда как в Германии только 17,5 случая на 1 000 000 человек [4, 5]. В последние годы наблюдается тенденция к увеличению частоты данного заболевания, о чем свидетельствуют результаты эпидемиологического исследования National Hospital Discharge Survey, согласно которому заболеваемость ОП в США выросла с 40 случаев на 100 000 населения в 1998 г. до 70 в 2002 г. [6].

Летальность среди пациентов с ОП находится в среднем в пределах 1,5–4,2%, а у больных с инфицированным панкреонекрозом возрастает до 30% [7]. При этом число смертельных исходов во многом зависит от тяжести процесса. Этот факт подтверждают результаты недавно опубликованного австралийского исследования, в котором летальность составила всего 0,08%, что, по словам авторов, объясняется ранней диагностикой тяжелого панкреатита и своевременно начатой интенсивной терапией [8].

Основными патоморфологическими признаками острого панкреатита являются: повышение уровня амилазы в крови (гиперамилаземия); преждевременная интраацинарная активация пищеварительных ферментов (превращение трипсиногена в трипсин); накопление крупных вакуолей в ацинарных клетках; активация провоспалительных медиаторов (например, через ядерный фактор карра- β), что приводит к инфильтрации воспалительными клетками поджелудочной железы и развитию системного воспалительного ответа; гибель ацинарных клеток путем апоптоза и некроза [9, 10].

В последние 15 лет усилия ученых, занимающихся изучением патогенеза ОП, были сфокусированы на исследовании сигнальных путей, вовлекаемых в данный патологический процесс. В основном речь шла о выяснении роли воспа-

dysfunction initiates processes of apoptosis, necrosis, activation of trypsinogen and vacuolation of acinar cells that this disease. Therefore new studies aimed for therapeutic impact on mitochondrions and lysosomes are required.

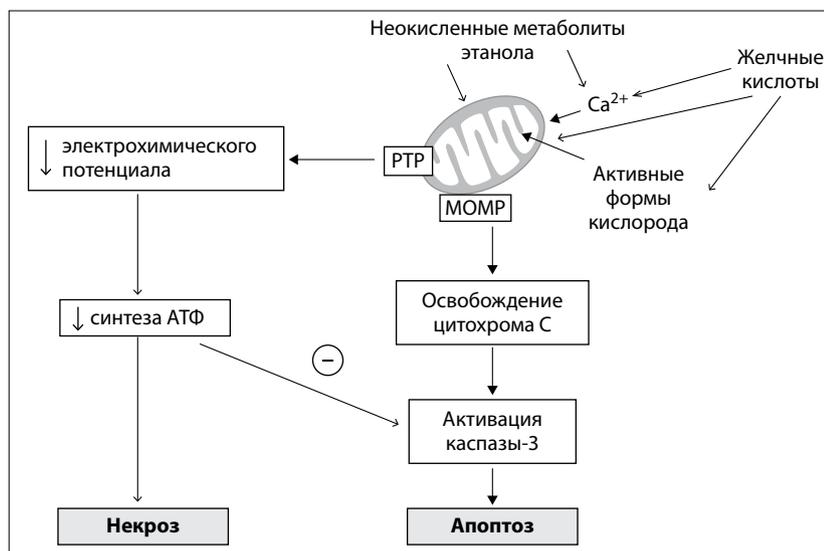
Key words: acute pancreatitis, dysfunction of organellas, mitochondrion, lysosome, apoptosis, necrosis, autophagy.

лительных медиаторов (цитокинов, хемокинов, ядерного фактора карра- β , молекул адгезии, новых изоформ протейкиназы С) и ответа на гибель клеток [9, 11]. При этом значение дисфункции органелл (митохондрий, лизосом) в патогенезе ОП долгое время оставалось недооцененным и мало изученным.

Дисфункция митохондрий при остром панкреатите

Митохондрии (от греч. *mitos* — нить, *chondrion* — зернышко) — это уникальные двумембранные органеллы, которые занимают центральное место в регуляции жизни и гибели клеток. Одной из основных функций митохондрий является синтез молекул *аденозинтрифосфата* (АТФ), универсальной формы химической энергии в любой живой клетке, путем окислительного фосфорилирования. С другой стороны, изменение проницаемости мембран митохондрий представляет универсальный триггер процессов апоптоза и некроза и часто рассматривается как «точка невозврата» в каскаде событий, ведущих к гибели клеток [12].

Первым этапом окислительного фосфорилирования является перенос электронов по дыхательной цепи от NADH к кислороду, что сопровождается переносом протонов из матрикса митохондрий через внутреннюю мембрану в межмембранное пространство. Протоны, перенесенные из матрикса, не могут вернуться обратно, так как внутренняя мембрана непроницаема для них. Таким образом, создается протонный градиент, при котором концентрация протонов в межмембранном пространстве больше, а pH меньше, чем в матриксе. Помимо этого, каждый протон несет положительный заряд и вследствие этого появляется разность потенциалов по обе стороны мембраны: отрицательный заряд на внутренней стороне и положительный — на внешней. В совокупности электрический и концентрационный градиенты составляют электрохимический потенциал $\Delta\mu\text{H}^+$ — источник энергии для синтеза АТФ [13].



Процессы апоптоза и некроза в митохондриях (адаптировано из I. Gukovsky и соавт. [15])

Некроз и *апоптоз* являются двумя основными путями гибели клеток. И очень важно понять, какие именно морфологические изменения происходят при этом. В апоптотических клетках реализуется следующая цепочка событий: уменьшение клетки в объеме → конденсация хроматина → фрагментация ядра и фрагментация клетки на апоптотические тельца → фагоцитоз апоптотических телец соседними клетками. При некрозе же отмечаются неорганизованное разрушение клеточных органелл и разрыв клеточной мембраны, что способствует высвобождению клеточного содержимого во внеклеточное пространство и сопровождается развитием воспалительной реакции [14, 15].

Ключевую роль в изменении проницаемости мембран митохондрий, выступающей триггером процессов апоптоза и некроза, играют цитохром С и митохондриальная деполяризация (см. рисунок). В первом случае происходит освобождение митохондриального белка цитохрома С в цитозоль, что стимулирует активацию специфических цистеиновых протеаз — каспаз, ответственных за апоптоз. Оказавшись в цитозоле, цитохром С вступает во взаимодействие с апоптосом-активирующим фактором 1 (АРАФ 1) и прокаспазой-9, что приводит к формированию мультибелкового комплекса (апоптосомы) и активации каспазы-9. Каспаза-9, в свою очередь, активирует эффекторные каспазы (например, каспазу-3), функционирующие как протеолитические каскады [15, 16]. Итогом работы эффекторных каспаз является разрушение белков, участвующих в поддержании гомеостаза и в репарации компонентов клетки, белков-регуляторов клеточного цикла, структурных белков и т. д. В основе же процесса некроза лежит деполяризация мембран митохондрий из-за потери электрохимического потенциала [15].

Центральную роль в инициации апоптоза и некроза занимает увеличение проницаемости мембран митохондрий. В этом процессе участвуют две различные системы: транспортная пора митохондрий (*permeability transition pore* — РТР) и комплекс проницаемости наружной мембраны митохондрий (*mitochondrial outer membrane permeability* — МОМР) [17].

Гибель ацинарных клеток является основным следствием воспаления в поджелудочной железе. При этом прогноз у больных ОП определяется числом некрозов [18]. Соответственно большое количество некротизированных клеток напрямую ассоциировано с плохим прогнозом у таких пациентов. К примеру, если некрозу подвергнуто 50% железы, то смертность достигает 20%.

Результаты проводимых экспериментальных исследований на животных коррелируют с реальной клинической картиной у больных. Так, в экспериментальных моделях на мышах ОП индуцируют введением высоких доз церулеина или L-аргинина либо диетой, бедной холином и богатой этионином, что сопровождается гибелью ацинарных клеток путем как апоптоза, так и некроза. Важно отметить, что при этом установлена прямая корреляция между тяжестью панкреатита и числом некрозов и обратная — между количеством апоптозов [19, 20].

Классическим объектом митохондриологии являются митохондрии клеток печени. Поэтому продолжительное время считалось, что митохондрии других органов обладают точно такими же характеристиками. Однако исследования на изолированных митохондриях поджелудочной железы продемонстрировали, что данные органеллы намного более чувствительны к Ca^{2+} , чем печеночные, и при минимальных изменениях концентрации ионов кальция происходит потеря электрохимического потенциала через открытие транспортной поры митохондрий [21].

Результаты ранее проведенных работ показывают, что нарушение гомеостаза кальция вследствие воздействия таких веществ, как желчные кислоты, неокисленные метаболиты этанола (этиловые эфиры жирных кислот), жирные кислоты, церулеин, играет главную роль в патогенезе ОП [15]. Так, неокисленные метаболиты этанола продуцируют Ca^{2+} -зависимые ингибиторы митохондрий, что сопровождается потерей электрохимического потенциала, прекращением синтеза NAD(P)H и АТФ [22, 23]. А избыточное количество сульфата-3 таурохолевой кислоты индуцирует длительное повышение уровня кальция в цито-

золе, что сопровождается увеличением захвата Ca^{2+} митохондриями и последующим нарушением синтеза АТФ [15]. Еще одним следствием перегрузки ионами кальция является открытие транспортной поры митохондрий, в результате чего вода может пенетрировать матрикс, приводя к разрыву внутренней мембраны и последующей гибели клеток [23].

Дисфункция лизосом при остром панкреатите

Лизосомы являются основными пищеварительными органеллами эукариотических клеток. Их функция состоит как в элиминации устаревающих компонентов самой клетки (аутофагия), так и в утилизации материала, попадающего в клетку извне (эндоцитоз и фагоцитоз). Лизосомы содержат большое количество разнообразных гидролитических ферментов, таких как протеазы (например, катепсины), липазы, нуклеазы, гликозидазы, фосфолипазы, фосфатазы, сульфатазы [24].

Аутофагия представляет многоступенчатый адаптивный процесс, влекущий за собой разрушение цитоплазматических органелл и долгоживущих белков [25, 26]. В начале процесса участок цитоплазмы (часто содержащий какие-либо органеллы) окружается мембранным компартментом, похожим на цистерну эндоплазматической сети. В результате этот участок отделяется от остальной цитоплазмы двумя мембранами. Такие двумембранные органеллы называются аутофагосомами. Аутофагосомы соединяются с лизосомами, образуя аутосомы, в которых органеллы и остальное содержимое аутофагосом расщепляются. Процесс аутофагии контролируется специфическими генами АТГ (*autophagy-related gene*) [26, 27].

Накопление крупных вакуолей в ацинарных клетках — один из патоморфологических признаков ОП. В нескольких исследованиях продемонстрировано, что указанные вакуоли имеют сходные характеристики с вакуолями, образующимися во время аутофагии (например, двойную мембрану и наличие белка LC3-II) [28, 29].

На настоящий момент рассматриваются два механизма нарушения аутофагии при панкреатите. Первый из них — это блокирование слияния лизосомы с аутофагосомой, что обычно происходит при лизосомальных заболеваниях. Вместе с тем наличие значительного числа вакуолей с частично разрушенным материалом в поджелудочной железе при остром панкреатите говорит против данной теории. Помимо этого наблюдаемое при ОП повышение уровня белка LC3-II в тканях железы возможно только в случае если аутолизосома (аутосома) сформирована.

Другой механизм нарушения процесса аутофагии заключается в подавлении активности лизосомальных гидролаз — катепсинов В и L.

Катепсин В ответственен за преобразование трипсиногена в трипсин, тогда как катепсин L — за деградацию трипсина и трипсиногена до аминокислот [29, 30]. При остром панкреатите заметно снижается ферментная активность обоих катепсинов в богатой лизосомами панкреатической субклеточной фракции и происходит накопление их незрелых форм. Именно поэтому в экспериментах на животных фармакологическое подавление катепсина В или L достаточно для вакуолизации ацинарных клеток [29].

Таким образом, вследствие нарушения процесса аутофагии при ОП происходит вакуолизация ацинарных клеток и интраацинарное накопление трипсина. Интересно отметить, что изменения, происходящие в поджелудочной железе при ОП, наблюдаются и при лизосомальных заболеваниях, причиной развития которых в большинстве случаев служат мутации гидролаз, что сопровождается их инактивацией. К таким характеристикам можно отнести блокирование аутофагии, накопление незрелых форм катепсинов, снижение активности деградации белков, вакуолизацию клеток и их гибель, а также воспалительный ответ организма [31].

Ранее выполненные исследования позволяют говорить о взаимосвязи между лизосомальной и митохондриальной дисфункциями. Так, R.J. Youle и D.P. Narendra показали, что деполаризация мембраны митохондрий является фактором, активирующим аутофагию, в частности митофагию (элиминацию митохондрий) [32]. В противовес этому нарушение аутофагии вследствие лизосомальной дисфункции при остром панкреатите приводит к накоплению дисфункциональных митохондрий, что, в свою очередь, сопровождается нарушением синтеза АТФ, деэнергизацией клеток поджелудочной железы и их некрозом. В результате формируется «порочный круг», приводящий к персистирующему нарушению процесса аутофагии и деполаризации митохондрий.

Заключение

В последнее время отмечаются рост заболеваемости острым панкреатитом и повышение смертности у пациентов с панкреонекрозом. Нарушение функции митохондрий и лизосом составляет патогенетическую основу ОП, приводя к деэнергизации клеток поджелудочной железы. Дисфункция митохондрий и лизосом инициирует при рассматриваемой патологии процессы апоптоза, некроза, активацию трипсиногена и вакуолизацию ацинарных клеток. Необходимо проведение новых исследований, целью которых будет разработка стратегий терапевтического воздействия на митохондрии и лизосомы.

Список литературы

1. Peery A.E., Dellon E.S., Lund J., et al. Burden of gastrointestinal diseases in the United States: 2012 Update. *Gastroenterology* 2012; 143:1179-87.
2. Yadav D., Lowenfels A.B. Trends in the epidemiology of the first attack of acute pancreatitis: a systemic review. *Pancreas* 2006; 33:323-30.
3. Fagenholz P.J., Castillo C.F., Harris N.S., et al. Increasing United States hospital admissions for acute pancreatitis, 1988-2003. *Ann Epidemiol* 2007; 17:491-7.
4. Tenner S., Baillie J., de Witt J., Swaroop Vege Santhi. Management of acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108:1400-15.
5. Nesvaderani M., Eslick Guy D., Cox Michael R. Acute pancreatitis: update on management. *Med J Aust* 2015; 202(8):420-3.
6. Singla A., Csikesz N.G., Simons J.P., Li Y.F., Ng S.C., Tseng J.F., et al. National hospital volume in acute pancreatitis: analysis of the Nationwide Inpatient Sample 1998-2006. *HPB (Oxford)*. 2009; 11(5):391-7.
7. Banks P.A., Bollen T.L., Dervenis C., et al. Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis-2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62:102-11.
8. Jacob, A.O., Stewart P., Jacob O. Early surgical intervention in severe acute pancreatitis: Central Australian experience. *ANZ J Surg* 2014; 5:310-6.
9. Pandol S.J., Saluja A.K., Imrie C.W., Banks P.A. Acute pancreatitis: bench to the bedside. *Gastroenterology* 2007; 132:1127-51.
10. Saluja A.K., Lerch M.M., Phillips P.A., Dudeja V. Why does pancreatic overstimulation cause pancreatitis? *Annu Rev Physiol* 2007; 69:249-69.
11. Everhart J.E., Ruhl C.E. Burden of digestive diseases in the United States Part III: liver, biliary tract, and pancreas. *Gastroenterology* 2009; 136:1134-44.
12. Ricchelli F., Sileikyte J., Bernardi P. Shedding light on the mitochondrial permeability transition. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1807:482-90.
13. Donaid Voet, Judith G. Voet. *Biochemistry*. 4th ed. 2011. John Wiley and Sons. IN
14. Galluzzi L., Maiuri M.C., Vitale I., Zischka H., Castedo M., Zitvogel L., Kroemer G. Cell death modalities: classification and pathophysiological implications. *Cell Death Differ* 2007; 14:1237-43.
15. Gukovsky I., Pandol S.J., Gukovskaya A.S. Organellar dysfunction in the pathogenesis of pancreatitis. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15(10):2699-710.
16. Adams J.M., Cory S. Apoptosomes: engines for caspase activation. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14:715-20.
17. Kroemer G., Galluzzi L., Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev* 2007; 87:99-163.
18. Topanzian M., Gorelick F., Yamada T., Alpers D., Owyang C., Powell D. Acute pancreatitis. *Textbook of Gastroenterology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2003. 2026-60.
19. Gukovskaya A.S., Pandol S.J. Cell death pathways in pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreatology* 2004; 4:567-86.
20. Mareninova O.A., Sung K.F., Hong P., Lugea A., Pandol S.J., Gukovsky I., Gukovskaya A.S. Cell death in pancreatitis: caspases protect from necrotizing pancreatitis. *J Biol Chem* 2006; 281:3370-81.
21. Odinkova I.V., Sung K.F., Mareninova O.A., Hermann K., Evtodienko Y., Andreyev A., Gukovsky I., Gukovskaya A.S. Mechanisms regulating cytochrome c release in pancreatic mitochondria. *Gut* 2009; 58:431-42.
22. Gukovskaya A.S., Gukovsky I. Which way to die: the regulation of acinar cell death in pancreatitis by mitochondria, calcium, and reactive oxygen species. *Gastroenterology* 2011; 140:1876-80.
23. Shalbueva N., Mareninova O.A., Pandol S.J., Gukovskaya A.S. Alcohol promotes pancreatic mitochondria depolarization by sensitizing the permeability transition pore to Ca²⁺. *Pancreas* 2010; 39:1347-57.
24. Luzio J.P., Pryor P.R., Bright N.A. Lysosomes: fusion and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8:622-32.
25. Levine B., Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008; 132:27-42.
26. Mizushima N., Levine B., Cuervo A.M., Klionsky D.J. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008; 451:1069-75.
27. Ковалева О.В., Шитова М.С., Зборовская И.Б. Аутофагия: клеточная гибель или способ выживания? *Клин онкогематол* 2014; 7(2):103-13.
27. Kovalyova O.V., Shitova M.S., Zborovskaya I.B. Autophagy: cellular death or way of survival? *Klin onkogematol* 2014; 7(2):103-13.
28. Gukovsky I., Gukovskaya A.S. Impaired autophagy underlies key pathological responses of acute pancreatitis. *Autophagy* 2010; 6:428-9.
29. Mareninova O.A., Hermann K., French S.W., O'Konski M.S., Pandol S.J., Webster P., Erickson A.H., Katunuma N., Gorelick F.S., Gukovsky I., Gukovskaya A.S. Impaired autophagic flux mediates acinar cell vacuole formation and trypsinogen activation in rodent models of acute pancreatitis. *J Clin Invest* 2009; 119:3340-55.
30. Wartmann T., Mayerle J., Kahne T., Sahin-Toth M., Ruthenburger M., Matthias R., Kruse A., Reinheckel T., Peters C., Weiss F.U., Sandler M., Lippert H., Schulz H.U., Aghdassi A., Dummer A., Teller S., Halangk W., Lerch M.M. Cathepsin L inactivates human trypsinogen, whereas cathepsin L-deletion reduces the severity of pancreatitis in mice. *Gastroenterology* 2010; 138:726-37.
31. Nixon R.A., Yang D.S., Lee J.H. Neurodegenerative lysosomal disorders: a continuum from development to late age. *Autophagy* 2008; 4:590-9.
32. Youle R.J., Narendra D.P. Mechanisms of mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011; 12:9-14.