

УДК 616-092

Молекулярные механизмы апоптоза нейтрофилов (обзор литературы)

Щепеткин И.А.^{1,2}, Буданова О.П.³, Малышев И.Ю.^{3,4}, Аточин Д.Н.^{2,5}

¹ Department of Microbiology and Immunology,
Montana State University, Bozeman, MT, 59717, USA.

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет».
634050, Томск, проспект Ленина, д. 30

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».
125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

⁴ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.
127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

⁵ Cardiovascular Research Center, Cardiology Division,
Massachusetts General Hospital, Charlestown, MA, 02129, USA

Резюме. В обзоре представлены современные данные о механизмах инициации, регуляции и выполнении процесса апоптоза нейтрофилов с участием «рецепторов смерти», митохондрий, белков семейства Bcl-2, PI3-K (phosphatidylinositol 3-kinase), протеинкиназных каскадов p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase), ERK (extracellular signal regulated kinase) и JNK (c-Jun N-terminal kinase), протеинкиназ A, B и C, cAMP, белков теплового шока, NF-κB (nuclear factor-κB), кальпаинов, каспаз и их ингибиторов, активных форм кислорода и других факторов. Предложена гипотетическая модель вовлечения апоптотических процессов в регуляцию дифференцировки и реактивности нейтрофилов.

Ключевые слова: нейтрофилы; апоптоз; клеточная дифференцировка; каспазы; активные формы кислорода.

Для цитирования: Щепеткин И.А., Буданова О.П., Малышев И.Ю., Аточин Д.Н. Молекулярные механизмы апоптоза нейтрофилов (обзор литературы). Патогенез. 2018; 16(4): 5-18

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.5-18

Для корреспонденции: Щепеткин Игорь Александрович, e-mail: igor@montana.edu

Финансирование. Работа выполнена при частичной поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект номер 4.8192.2017/8.9) и программы повышения конкурентоспособности Томского политехнического университета (проект ВИУ-НОЦ Н.М. Кижнера – 213/2018). Исследование механизмов, связанных с действием каскадов MAPK, выполнялось при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 17-15-01111.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 06.09.2018

Molecular mechanisms of neutrophil apoptosis (review)

Shchepetkin I.A.^{1,2}, Budanova O.P.³, Malyshev I.Yu.^{3,4}, Atochin D.N.^{2,5}

¹ Department of Microbiology and Immunology,
Montana State University, Bozeman, 59717, USA

² National Research Tomsk Polytechnic University,
Prospekt Lenina 30, Tomsk 634050, Russian Federation

³ Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

⁴ A.I.Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,
Delegatskaya Str. 20, Bld. 1, Moscow 127473, Russian Federation

⁵ Cardiovascular Research Center, Cardiology Division, Massachusetts General Hospital, Charlestown, MA, 02129, USA

Abstract: This review presented recent data on initiation, regulation, and execution of neutrophil apoptosis with participation of «death receptors», mitochondria, Bcl-2 family proteins, PI3-K (phosphatidylinositol 3-kinase), p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase), ERK (extracellular signal regulated kinase) and JNK (c-Jun N-terminal kinase) cascades, protein kinases A, B and C, cAMP, heat shock proteins, NF-κB (nuclear factor-κB), calpains, caspases and their inhibitors, reactive oxygen species, and other factors. A speculative model of the apoptotic processes involvement in the regulation of neutrophil differentiation and reactivity was proposed.

Key words: neutrophils; apoptosis; cell differentiation; caspases; reactive oxygen species.

For citation: Shchepetkin I.A., Budanova O.P., Malyshev I.Yu., Atochin D.N. [Molecular mechanisms of neutrophil apoptosis (review)]. *Pathogenesis*. 2018; 16(4): 5-18 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.5-18

For correspondence: Shchepetkin Igor' Alexandrovich, e-mail: igor@montana.edu

Funding: The study was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (project No. 4.8192.2017/8.9) and Tomsk Polytechnic University Competitiveness Enhancement Program grant No. CEP-N. Kizhner Center – 213/2018. Investigation of MAPK pathways was done at support of Russian Science Foundation, project No. 17-15-01111.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Received: 06.09.2018

Основные принятые сокращения:

АФК – активные формы кислорода, ХГЗ – хроническое грануломатозное заболевание, Apaf-1 – apoptosis protease activating factor 1, cAMP – cyclic adenosine monophosphate, ERK – extracellular signal regulated kinase, FADD – Fas-associated death domain protein, FasL – Fas ligand, G-CSF – granulocyte colony-stimulating factor, GM-CSF – granulocyte macrophage-colony stimulating factor, Hsp – heat shock proteins, IAP – inhibitor of apoptosis proteins, I κ B α – inhibitor of nuclear factor- κ B, IFN – interferon, IL – interleukin, JNK – c-Jun N-terminal kinase, MAPK – mitogen-activated protein kinase, NF- κ B – nuclear factor- κ B, NO – nitric oxide, NuMA – nuclear protein that associates with the mitotic apparatus, PARP – poly(ADP-ribose) polymerase, PI3-K – phosphatidylinositol 3-kinase, PMA – phorbol-12-myristate-13-acetate, RIP – receptor-interacting protein, SHIP – SH2-containing inositol phosphatase, SHP – Src homology domain 2 (SH2)-containing tyrosine phosphatase, STAT – signal transducer and activator of transcription, TNF – tumor necrosis factor, TNF-R – TNF receptor, TRADD – TNF receptor-associated death domain, TRAF – TNF-receptor-associated factor, TRAIL – TNF-related apoptosis-inducing ligand, XIAP – X-linked inhibitor of apoptosis protein.

Введение

Нейтрофилам принадлежит ведущая роль в антибактериальной защите организма, а также развитии острого воспалительного ответа [1, 2]. В последнее десятилетие значительное внимание было уделено изучению апоптоза нейтрофилов. Многочисленные исследования указывают, что апоптоз нейтрофилов является одним из механизмов регуляции интенсивности и продолжительности воспалительного ответа. Апоптотический процесс также поддерживает количественный баланс этих клеток в организме [3]. Показано, что апоптозу нейтрофилов свойственны основные черты канонического апоптоза: активация процесса через «рецепторы смерти», участие митохондрий и белков семейства Bcl-2 в регуляции апоптоза, регуляторная и эффекторная роль каспаз [3]. В то же время, сообщается, что гибель нейтрофилов может протекать по каспазо-независимому пути [4]. Таким образом, нейтрофилы, как и другие клетки организма, могут иметь многообразные молекулярные пути выполнения этого процесса: расщепление белков каспазами, кальпаинами и протеосомами, лизосомальная (аутофагическая) и опосредованная активными формами кислорода (АФК) дегградация внутриклеточных макромолекул, надмолекулярных комплексов и органелл [5, 6].

В настоящей работе обобщаются экспериментальные данные по исследованию внутриклеточных механизмов регуляции апоптоза нейтрофилов. Основными критериями оценки апоптоза нейтрофилов, как и других клеток организма, являются морфологические признаки (уменьшение размеров клетки, конденсация цитоплазмы, фрагментация ядра), экспрессия фосфатидилсерина на внешней поверхности плазматической мембраны, фрагментация ДНК, увеличение количества клеток с гиподиплоидной ДНК и некоторые другие. Необходи-

мо отметить, что если при рассмотрении реактивности нейтрофилов главное внимание обычно уделяется изменению их метаболической активности в ответ на стимуляцию (мобилизационные и фагоцитарные реакции) [1], то при исследовании механизмов апоптоза нейтрофилов в качестве объекта исследования используются, как правило, покоящиеся (нестимулированные) и примированные клетки.

Основные типы апоптоза нейтрофилов

Жизненный цикл нейтрофилов протекает последовательно в костном мозге, крови и тканях. Для пролиферации и созревания нейтрофилов человека в костном мозге необходимо 13-15 дней. Зрелые нейтрофилы циркулируют в крови 1-2 дня, а при переходе в ткани могут жить до 3-5 дней [1, 7]. Хотя апоптоз нейтрофилов может протекать спонтанно, скорость этого процесса значительно увеличивается в результате лигации «рецепторы смерти» или активирующего воздействия на внутриклеточные апоптотические пути некоторых химических агентов и высокоэнергетического излучения (например, гамма- или ультрафиолетовое излучение). В зависимости от вида воздействия внутриклеточные механизмы регуляции апоптоза могут различаться. Как и в других типах клеток, в нейтрофилах рецептор-опосредованная активация апоптоза происходит, если только «рецепторы смерти» имеют цитоплазматический «домен смерти», ассоциированный с универсальным адаптерным белком FADD (Fas-associated death domain protein) (рис. 1). В настоящее время на нейтрофилах охарактеризованы три таких рецептора: Fas (рецептор для FasL (Fas лиганд)), TNF-R1 (рецептор 1 для TNF (tumor necrosis factor)) и TRAIL-R1 (рецептор 1 для TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand)) [8, 9]. В клетках, способных образовывать большое количество каспазы-8, возможна прямая последующая активация каспазы-3 (клетки I типа). При образовании малого количества каспазы-8 для активации каспазы-3 необходимы факторы митохондриального происхождения (клетки II типа) [10]. Как будет видно из дальнейшего изложения, в зависимости от метаболической активности и действия внеклеточных факторов, нейтрофилы могут вести себя как клетки I или II типа.

Fas-опосредованный апоптоз. Fas (APO-1/CD95) вовлекается в передачу сигнала для активации апоптоза в различных типах клеток, в том числе, нейтрофилах [11]. По сравнению с лимфоцитами, нейтрофилы экспрессируют относительно низкий уровень Fas. Данные об экспрессии нейтрофилами мембраносвязанной формы FasL не подтвердились в дальнейших исследованиях [12]. Тем не менее, сообщается, что нейтрофилы продуцируют небольшое количество растворимого FasL [8]. Возможно, что отсутствие экспрессии FasL на нейтрофилах связано с высокой скоростью его протеолитического слушивания с клеточной поверхности. Способность индуцировать апоптоз нейтрофилов у растворимой формы FasL значительно ниже, чем у мембраносвязанной формы FasL [13]. По данным Виллунгер с соавт. [14] для инициации Fas-опосредованного апоптоза необходима

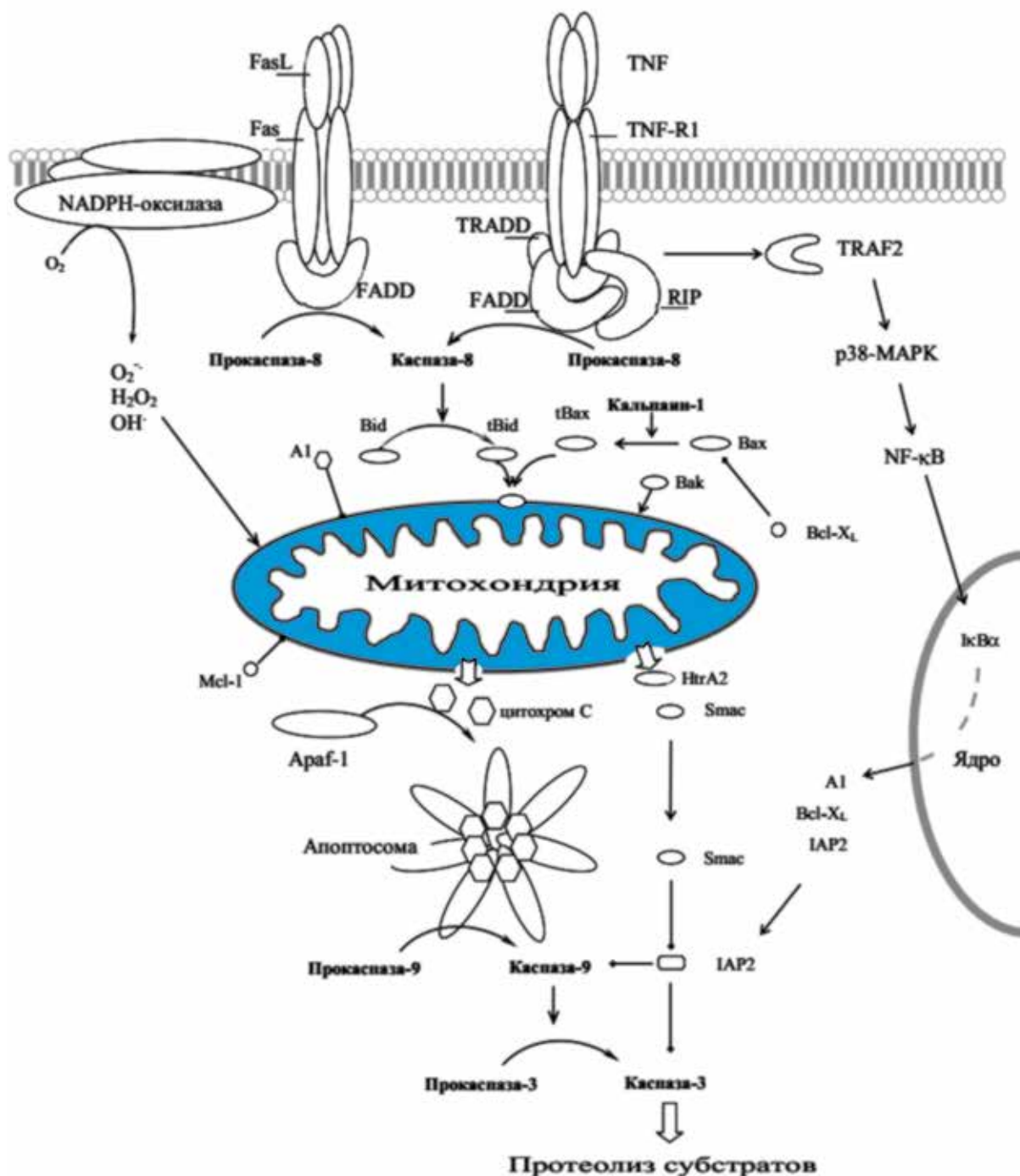


Рис. 1. Регуляция апоптоза нейтрофилов с участием «рецепторов смерти» (Fas и TNF-R1), внутрицитоплазматических адапторных белков (FADD, TRADD, RIP, TRAF2), каспаз, митохондриальных факторов, белков семейства Bcl-2, NF-κB и других факторов.

мультемеризация Fas на поверхности нейтрофилов. По-видимому, активация Fas-опосредованного пути может происходить в отсутствие FasL, в результате агрегации Fas на плазматической мембране нейтрофилов при клеточном стрессе, например при действии на клетки АФК или ультрафиолетового излучения [15].

В экспериментальных условиях *in vitro* для Fas-опосредованной активации апоптоза обычно используют анти-Fas антитела класса IgM. Добавление к нейтро-

филам таких антител вызывает активацию каспазы-8, секвестрацию митохондрий, выход из митохондрий апоптогенных факторов и последующую активацию каспазы-3 [16, 17]. Хотя Fas-опосредованная активация апоптоза нейтрофилов подавляется панкаспазным ингибитором zVAD-fmk [18], тем не менее, не все каспазы необходимы для развития этого типа клеточной смерти. Действительно, нейтрофилы мышей, дефицитных по гену каспазы-1, остаются чувствительными к анти-Fas

антителам [19]. Каспаза-3 способна активировать протеинкиназу Cd, которая, в свою очередь, активирует NADPH-оксидазу, генерирующую в нейтрофилах супероксидный радикал [7]. Предполагается, что АФК принимают участие в Fas-опосредованном апоптозе нейтрофилов [17]. Fas-опосредованный апоптоз особенно выражен в нейтрофилах, обработанных циклогексимидом [20]. Это косвенно свидетельствует о важной роли в выживании нейтрофилов *de novo* синтеза белков с антиапоптогенными (защитными) свойствами. Один из механизмов подавления провоспалительными медиаторами этого типа апоптоза нейтрофилов состоит в увеличении стабильности митохондрий и снижении активности каспазы-3. Другие факторы могут модулировать Fas-опосредованный апоптоз нейтрофилов, увеличивая или уменьшая экспрессию Fas. Например, вирус Эпштейн-Барра увеличивает экспрессию нейтрофилами этого рецептора [21]. Исследование гранулопоза у мышей линии B6, мутантных по генам FasL (B6/gld) и Fas (B6/lpr) показало, что взаимодействие FasL-Fas играет незначительную роль в модуляции числа коммитированных миелоидных клеток-предшественников и размера периферического пула зрелых нейтрофилов в норме и в течение острого воспалительного ответа [22, 23]. Тем не менее, Fas-опосредованная активация апоптоза нейтрофилов, по-видимому, может рассматриваться как механизм, обуславливающий затухание воспалительного ответа при некоторых заболеваниях.

TNFR-опосредованный апоптоз. Описаны два типа высокоафинных рецепторов TNF: TNF-R1 с мол. весом 55 кДа и TNF-R2 с мол. весом 75 кДа [24]. Эти рецепторы экспрессируются большинством типов клеток, включая нейтрофилы. Основная часть ответов нейтрофилов на TNF обусловлены TNF-R1 [25]. В зависимости от функционального состояния нейтрофилов и модулирующего действия других медиаторов (цитокины, лиганды интегринов) TNF активирует, подавляет или не влияет на апоптоз этих клеток [26].

Муррэй с соавт. [27] показали, что долговременная (более 18 часов) инкубация нейтрофилов с TNF приводит к пролонгации жизни нейтрофилов, тогда как коротковременная (менее 8 часов) инкубация вызывает активацию их апоптоза. Предполагается, что TNF активирует апоптоз в чувствительных нейтрофилах и стимулирует антиапоптогенные механизмы в выживших клетках [27]. По-видимому, как и в других типах клеток, TNF индуцирует апоптоз нейтрофилов, если цитоплазматическая область TNF-R1 рекрутирует (при участии TRADD) FADD [28]. TRADD ассоциируется с RIP (receptor-interacting protein) и/или TRAF2 (TNF-receptor-associated factor 2), которые являются адаптерными белками, необходимыми для активации JNK (c-Jun N-terminal kinase) и NF-κB (nuclear factor-κB) [28]. Активация апоптоза нейтрофилов TNF через сигнальный путь RIP@JNK показана в работе Авди с соавт. [29]. По мнению этих исследователей, для реализации TNFR-опосредованного апоптоза необходимо чтобы нейтрофилы были вовлечены в интегриновое взаимодействие. В пострецепторных механизмах этого типа апоптоза нейтрофилов участвуют также PI-3K (phosphatidylinositol 3-kinase)-регулируемая про-

теинкиназа B (Akt), Ca-независимая протеинкиназа Cz и протеинкиназа Cβ [30].

Хотя обработка нейтрофилов TNF приводит к активации каспаз, полное ингибирование этих ферментов не вызывает торможения апоптоза, или даже усиливает этот процесс [26, 31]. С одной стороны, показано, что в присутствии панкаспазного ингибитора zVAD-fmk апоптоз может быть индуцирован TNF в нейтрофилах больных хроническим грануломатозным заболеванием (ХГЗ), характеризующимся неполноценностью ферментативного комплекса NADPH-оксидазы [32]. С другой стороны, антиоксидант N-ацетилцистеин отменяет апоптогенное действие на нейтрофилы TNF в присутствии zVAD-fmk. Поэтому авторы делают вывод, что в каспазо-независимом апоптозе нейтрофилов участвуют генерируемые митохондриями АФК [26, 31]. Не исключено, однако, что TNF может индуцировать в нейтрофилах процесс аутофагии, как это происходит в Т-лимфобластных клетках [33]. Пролонгация жизни нейтрофилов в присутствии TNF является, очевидно, следствием активации транскрипционной активности NF-κB. Активация NF-κB через TRAF выявлена в некоторых типах клеток [34], а также в нейтрофилах. По-видимому, важную роль в TNFR-опосредованной активации NF-κB играет протеинкиназа Cδ [35]. Килпатрик с соавт. [36] обнаружили антиапоптогенное действие TNF на нейтрофилы, которые были вовлечены в интегриновое взаимодействие. Это действие TNF отменялось специфическими ингибиторами PI-3K и протеинкиназы Cd. Другой механизм влияния TNF может заключаться в активации продукции нейтрофилами IL-8 (interleukin-8), который по аутокринному пути оказывает антиапоптогенный эффект на нейтрофилы [37].

TRAIL-индуцированный апоптоз. Нейтрофилы экспрессируют три типа рецептора для TRAIL: TRAIL-R1, TRAIL-R3 и TRAIL-R4 [38]. Из них только TRAIL-R1 имеет цитоплазматический «домен смерти», способный связываться с FADD. Мембраносвязанная форма TRAIL ускоряет апоптоз нейтрофилов, а растворимая форма TRAIL лишь ограничивает защитное действие на эти клетки цитокинов GM-CSF (granulocyte macrophage-colony stimulating factor), G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor) и IFN-γ (interferon-γ) [38]. Хотя TRAIL-R3 и TRAIL-R4 не имеют «домена смерти», связывание TRAIL с этими рецепторами может, очевидно, снижать эффективное количество лиганда и тормозить развитие TRAIL-индуцированного апоптоза нейтрофилов [38]. Предполагается, что в отличие от эозинофилов, TRAIL не способен активировать NF-κB в нейтрофилах человека [38].

Фагоцитоз-индуцированный апоптоз. Фагоцитоз частиц и бактерий может вызывать быстрый апоптоз нейтрофилов. Этот тип апоптоза подавляется антиоксидантными соединениями и антителами к интегрину αMβ2 и β2-интегриновой субъединице, а также не наблюдается в нейтрофилах больных ХГЗ [39, 40]. Активация фагоцитоз-индуцированного апоптоза происходит в результате «респираторного взрыва», каскадной активации каспаза-8@каспаза-3 (как в клетках I типа) и не зависит от «рецепторной смерти», митохондриальных факторов и апоптосомальной активации прокаспазы-9 [40]. Возможно, что в этом типе клеточной смерти принимает участие процесс аутофагии, как это показано для макрофагов [41].

Стресс-индуцированный апоптоз. Облучение нейтрофилов человека (*in vitro*) ультрафиолетовым излучением ($\lambda = 254$ нм) в дозах от 6 до 600 Дж/м² ускоряет апоптоз нейтрофилов с выходом на плато кривой «доза-эффект» при дозах 250-300 Дж/м² [42]. Облучение суспензии нейтрофилов γ -излучением в дозе 2 Гр ускоряет, а в дозе 10-20 Гр тормозит апоптоз нейтрофилов [43]. Апоптоз нейтрофилов может быть также индуцирован гипертермическим воздействием [44]. В регуляцию ультрафиолет-индуцированного апоптоза нейтрофилов вовлечены p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase) и ERK (extracellular signal regulated kinase) [2, 45]. Наряду с MAPK, важными регуляторами стресс-индуцированного апоптоза нейтрофилов являются белки теплового шока (Hsp (heat shock proteins)) [46].

Спонтанный апоптоз. В покоящихся нейтрофилах протекают процессы спонтанного («конститутивного», «дифференцировочно-индуцированного») апоптоза. В настоящее время, молекулярные механизмы, лежащие в основе этого процесса, продолжают обсуждаться. Предполагается, что спонтанный апоптоз активируется через Fas, как результат его лигирования мембраносвязанным и/или растворимым FasL в ходе межклеточной кооперации нейтрофилов [47]. В дальнейшем было показано, что нейтрофилы мышей, мутантных по генам Fas и FasL подвергаются спонтанному апоптозу с той же скоростью, что и нейтрофилы нормальных животных [14, 23].

По мнению Ватсон [3], эндогенная продукция АФК и истощение в нейтрофилах восстановленного глутатиона (GSH) и SH-групп могут быть одними из основных факторов спонтанного апоптоза. Глюкоза замедляет спонтанный апоптоз нейтрофилов, возможно, за счет гликолитического поддержания необходимой внутриклеточной концентрации АТФ [48]. Важным фактором спонтанного апоптоза может быть значительное снижение в нейтрофилах экспрессии защитных белков семейства Bcl-2, по сравнению с апоптогенными белками из этого же семейства [49]. В регуляции и реализации спонтанного апоптоза нейтрофилов основная роль принадлежит каспазам -3 и -8, протеинкиназе Cd и митохондриям [16]. В отличие от Fas-опосредованного апоптоза, в механизме спонтанного апоптоза более важное значение имеет каспаза-1 [19].

Следует отметить, что дифференцировка нейтрофилов в костном мозге происходит при наличии их тесного контакта со стромальными клетками и при высокой концентрации гематopoэтических факторов роста. Эти условия, очевидно, способствуют долговременному выживанию нейтрофилов и их предшественников в результате высокой скорости синтетических процессов и активации защитных факторов. Выход нейтрофилов из костного мозга приводит к потере контактов со стромальными клетками и резкому снижению в их микроокружении концентрации цитокинов, таких как G-CSF и GM-CSF [50].

Внутриклеточные сигнальные пути и вторичные мессенджеры

Апоптоз нейтрофилов, также как и других клеток организма, регулируется сложной сетью внутриклеточных сигнальных путей и реализуется с участием эффектор-

ных молекул, среди которых наиболее изученными являются белки семейства Bcl-2, различные протеинкиназы, транскрипционный фактор NF- κ B, каспазы и АФК.

Митохондрии и белки семейства Bcl-2. В различных типах клеток митохондрии играют центральную роль в регуляции апоптоза благодаря своей способности интегрировать сигналы белков семейства Bcl-2 и координировать каскадную активацию каспаз. Одни из белков семейства Bcl-2 (Bax, Bid, Bak, Bad) активируют выход из митохондрий апоптогенных факторов, а другие белки (Mcl-1, Bcl-XL, A1, Bcl-2) – препятствуют этому процессу [51, 52]. В соответствии с эндосимбиотической гипотезой предполагается, что механизмы, вовлеченные в поддержание симбиоза между бактериальным предком митохондрии и предком-хозяином эукариотической клетки, послужили основой для регуляции этого процесса секвестрации митохондрий [51].

Показано, что каспаза-8 активирует Bid; взаимодействие между Bid и Bax приводит к олигомеризации и транслокации Bax во внешнюю мембрану митохондрий и образованию белок-проводящих мегапор [52]. Мегапоры могут также образовываться в результате взаимодействия Bax и Bak с митохондриальным порином VDAC (voltage-dependent anion-selective channel) [53]. Интеграции Bax в митохондриальную мембрану препятствует Bcl-XL [54]. Через образованные мегапоры в цитоплазму выходят факторы, которые запускают последующие этапы апоптоза. К этим факторам относятся цитохром c, Smac (second mitochondria-derived activator of caspase) и митохондриальная сериновая протеаза HtrA2. В цитоплазме цитохром c связывается с Araf-1 (apoptosis protease activating factor 1), который подвергается мультимеризации с образованием комплекса, получившего название «апоптосома». В составе этого комплекса происходит аутопроцессинг прокаспазы-9 [55].

Предполагается, что описанный выше механизм активации апоптоза реализуется в нейтрофилах [18]. Несмотря на то, что в ходе дифференцировки нейтрофилов количество митохондрий в клетках значительно уменьшается, эти органеллы способны осебодждать апоптогенные факторы в количестве, достаточном для апоптосомального процессинга прокаспазы-9 [56]. Потеря митохондриями мембранного потенциала является одним из ранних маркеров апоптоза нейтрофилов. Тем не менее, подавление митохондриальной функции ингибиторами окислительного фосфорилирования не повышает скорости апоптоза нейтрофилов [57].

Нейтрофилы конститутивно экспрессируют белки Bax, Bid, Bak, Bad, Mcl-1, Bcl-X_L и A1 [48, 58] и не экспрессируют белок Bcl-2 с защитными свойствами [58]. По-видимому, Bax является одним из ключевых регуляторов апоптоза нейтрофилов [58, 59, 60]. Спонтанный апоптоз нейтрофилов сопровождается внутриклеточным перераспределением Bax и связыванием его с митохондриями. Bax-дефицитные нейтрофилы имеют сниженную скорость апоптоза [59]. Между уровнем экспрессии Bak и продолжительностью жизни нейтрофилов *in vitro* корреляция не выявлена [61]. Нейтрофилы периферической крови мышей имеют высокий уровень белка A1, тогда как экспрессия этого белка моноцитами этих жи-

вотных незначительна [62]. В нейтрофилах апоптогенные белки семейства Bcl-2 очень стабильны, поскольку имеют длительное время полу-жизни, а защитный белок Mcl-1 имеет относительно короткое время полу-жизни [48]. При отсутствии *de novo* синтеза белков Mcl-1 и A1 интегральная активность апоптогенных белков будет преобладающей. Для понимания процесса спонтанного апоптоза очень важно иметь представление о механизмах клеточной дифференцировки. В единичных работах проведено изучение механизмов регуляции апоптоза гематопозитических CD34+ клеток человека. В частности, показано, что экспрессия Bcl-XL прогрессивно снижается в ходе гранулоцитарной дифференцировки CD34+ клеток [63]. Одной из моделей изучения процессов дифференцировки нейтрофилов являются миелолейкозные клетки человека линии HL-60, которые дифференцируются в направлении гранулоцитарного фенотипа в присутствии ретиноевой кислоты или диметилсульфоксида. Дифференцировка этих клеток сопровождается повышением экспрессии апоптогенных белков Вах и Вак и понижением экспрессии защитных белков Bcl-2, Bcl-X_L и Mcl-1 [64]. Абделхалеем [65], однако, не выявил значительных изменений в уровне Вах в ходе гранулоцитарной дифференцировки клеток HL-60.

Роль белков семейства Bcl-2 в регуляции апоптоза нейтрофилов подтверждена генетическими экспериментами. Так, искусственная экспрессия в нейтрофилах белка Bcl-2 (клетки от *vav-bcl-2* трансгенных мышей) вызывает ингибирование спонтанного и химио-индуцированного (этопозидом, цис-платиной, доксорубицином) апоптоза; скорость Fas-опосредованного апоптоза при этом не изменяется [14]. Нейтрофилы, выделенные из мышей, дефицитных по гену A1 (A1^{-/-}) имеют увеличенную скорость спонтанного апоптоза [66]. Интересно, что в нейтрофилах мышей, дефицитных по гену CD18 (CD18^{-/-}) обнаруживается повышение экспрессии Bcl-X_L и снижение экспрессии Вах. Эти нейтрофилы характеризуются значительным снижением скорости спонтанного апоптоза по сравнению клетками, выделенными от нормальных мышей [67].

Каскады MAPK. В настоящее время хорошо охарактеризованы три каскада MAPK: p38 MAPK, ERK и JNK. Каждый протеинкиназный каскад состоит из трех классов серин/треонин киназ: MAPK, MAPKK (киназа MAPK) и MAPKKK (киназа MAPKK). JNK и p38 MAPK каскады активируются в ответ на стрессовые воздействия, такие как g- и ультрафиолетовое излучения, гипертермический и осмотический шок, а также цитокинами. ERK каскад активируется преимущественно в ответ на цитокины [68]. Каскады p38 MAPK, ERK или JNK являются многофункциональными сигнальными модулями, регулируемыми апоптоз нейтрофилов [2].

В нейтрофилах p38 MAPK активируется в ответ на обработку клеток липополисахаридом, TNF, GM-CSF, PAF (platelet-activating factor), fMLF (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine), IL-8 и некоторыми другими медиаторами [69]. По данным ряда авторов [2, 14], p38 MAPK принимает участие в проведении внутриклеточных сигналов стресс-индуцированного, но не спонтанного апоптоза нейтрофилов. В частности, подавление актив-

ности p38 MAPK ингибитором SB203580 пролонгирует выживание дифференцированных в направлении гранулоцитарного фенотипа клеток HL-60 после воздействия на них ультрафиолетового излучения [2]. Аошибка с соавт. [70], однако, считают, что p38 MAPK необходима для нормального протекания спонтанного апоптоза нейтрофилов. Противоречивые данные [2, 70] о роли p38 MAPK в спонтанном апоптозе нейтрофилов могут быть связаны с тем, что p38 MAPK фосфорилирует белки, которые участвуют как в про-, так и антиапоптогенных процессах [70]. Возможный механизм антиапоптогенного действия p38 MAPK в нейтрофилах состоит в активации транскрипционной активности NF-κB и последующей NF-κB-зависимой экспрессии защитных белков из семейства Bcl-2 [14]. Показано, что p38 MAPK необходима для повышения выживания нейтрофилов в условиях гипоксии [71]. Зависимые от p38 MAPK антиапоптогенные процессы могут подавляться при Fas-опосредованной активации апоптоза нейтрофилов [70].

TNFR-опосредованный апоптоз адгезированных нейтрофилов связан с активацией JNK каскада [28]. Активность JNK подавляется, если в нейтрофилах, обработанных TNF, происходит активация p38 MAPK [72]. В тоже время, при снижении активности p38 MAPK в нейтрофилах наблюдается увеличение активности ERK [73]. Активация ERK подавляет развитие спонтанного и TNFR-опосредованного апоптоза нейтрофилов [74]. Значительная задержка апоптоза нейтрофилов наблюдается при одновременной активации ERK и протеинкиназы B [74].

cAMP (cyclic adenosine monophosphate) и протеинкиназа A. В нейтрофилах cAMP сильно задерживает развитие апоптоза [75], хотя в Т-лимфоцитах [76, 77] и клетках лейкемических линий [78, 79] cAMP индуцирует этот процесс. Основными cAMP-зависимыми белками являются протеинкиназа A и EPAC (exchange protein activated by cAMP), – фактор активации ГТФазы Rap1. Возможно, что антиапоптогенное действие cAMP в нейтрофилах опосредуется через протеинкиназу A. В нейтрофилах обнаружена высокая экспрессия Rap1 [80]. Тем не менее, участие EPAC и Rap1 в апоптозе нейтрофилов остается не исследованным. Интересно, что ингибирование активности протеосом отменяет защитное действие cAMP на нейтрофилы [75].

PI3-K и протеинкиназа B. PI3-K и протеинкиназа B (Akt) играют важную роль в регуляции апоптоза нейтрофилов [81]. PI3-K относится к семейству липидных киназ, которые вовлечены в регуляцию ответов нейтрофилов на различные воздействия. Среди различных изоформ PI3-K важная роль в регуляции апоптоза нейтрофилов принадлежит PI3-Kg. Показано, что интенсивность апоптоза нейтрофилов у мышей, дефицитных по гену PI3-Kg (PI3-Kg^{-/-}) увеличена по сравнению с клетками нормальных животных [82]. В этих клетках обнаружено снижение активных фосфорилированных протеинкиназы B и CREB (cAMP response element binding protein), уменьшение транскрипционной активности NF-κB и снижение уровней защитных белков Mcl-1 и Bcl-XL [82]. Это связано с тем, что PI3-Kg находится в начале этого внутриклеточного сигнального пути.

Протеинкиназа В фосфорилирует Bad, каспазу-9, NF-κB и XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) [83], – факторов, играющих важнейшую роль в регуляции апоптоза нейтрофилов.

Протеинкиназы С. Из известных одиннадцати изоферментов протеинкиназы С в нейтрофилах выявлена экспрессия -α, -β, -ζ и -δ изоформ. В нейтрофилах протеинкиназа Cd активируется каспазой-3 с образованием фрагмента, который промотирует апоптоз. В то же время, в нейтрофилах протеинкиназа Cd может быть вовлечена в процесс активации NF-κB. Ингибитор протеинкиназы Сb (LY379196) не влияет на спонтанный апоптоз нейтрофилов. Все указанные изоферменты протеинкиназы С участвуют в фосфорилировании p47(phox), являющегося одним из компонентов NADPH-оксидазы нейтрофилов [84]. Благодаря этому свойству различные изоферменты протеинкиназы С могут принимать участие в регуляции и реализации апоптоза нейтрофилов путем активации сборки NADPH-оксидазного комплекса и генерации АФК [85].

SHP (Src homology domain 2 (SH2)-containing tyrosine phosphatase) и SHIP (SH2-containing inositol phosphatase). SHP и SHIP являются фосфатазами, которые принимают участие в регуляции дифференцировки, пролиферации и апоптоза в различных типах клеток. Показано, что низкая активность SHP-1 в нейтрофилах ассоциируется с повышенным выживанием клеток, а высокие активности SHP-1 и SHP-2 наблюдаются у пациентов с нейтропенией [86, 87]. Активация SHP-1 подавляет антиапоптозное действие на нейтрофилы цитокинов GM-CSF, G-CSF и IFN-γ [87]. Нейтрофилы, выделенные из мышей, дефицитных по гену SHIP (SHIP^{-/-}) менее чувствительны к индукции апоптоза различными стимулами [88]. Активация SHIP в нейтрофилах зависит от активности Лун-киназы и NADPH-оксидазы [89].

Hsp. Белки теплового шока Hsp27, Hsp70 и Hsp90 влияют на активность многих внутриклеточных медиаторов, вовлеченных в апоптоз [90]. В частности, показано, что Hsp27 связывает цитохром с, предупреждая его взаимодействие с Araf-1 [91]. Hsp70 связывает Araf-1 и ингибирует рекрутирование апоптосомой прокаспазы-9 [92], а Hsp90 может ассоциироваться с Araf-1, подавляя его олигомеризацию и образование активной апоптосомы [92, 93]. Среди перечисленных белков теплового шока регулирующая роль в апоптозе нейтрофилов выявлена пока только для Hsp27. В покоящихся (нестимулированных) нейтрофилах Hsp27 практически не определяется, но обработка клеток TNF увеличивает внутриклеточный уровень Hsp27 [94]. Hsp27 является важным компонентом сигнального комплекса, в который входят протеинкиназа В и p38 MAPK [95].

NF-κB. NF-κB относится к семейству транскрипционных факторов, которые участвуют в активации генов, вовлеченных в процессы клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза [96]. В нормальном состоянии NF-κB присутствует в цитоплазме в связанной форме со своим ингибитором IκBα (inhibitor of nuclear factor-κB). Активация клеток вызывает фосфорилирование IκBα, диссоциацию комплекса NF-κB-IκBα и транслокацию NF-κB в ядро, где он взаимодействует с соответствующими

областями ДНК и инициирует транскрипцию различных генов [96].

Активация NF-κB является мощным механизмом поддержания жизнеспособности нейтрофилов. Показано, что в ядрах нестимулированных нейтрофилов содержится достаточно высокое количество IκBα. Это препятствует транскрипции NF-κB-зависимых генов и синтезу защитных белков [35, 97]. Поэтому один из механизмов увеличения выживания нейтрофилов в ответ на действие провоспалительных факторов заключается в активации деградации IκBα, повышении транскрипционной активности NF-κB и увеличении экспрессии белков A1, A20, Bcl-X_L и IAP2 (inhibitor of apoptosis protein 2) [97]. Долговременная инкубация нейтрофилов с липополисахаридом вызывает, однако, ресинтез IκBα, который транслоцируется в ядро и связывает NF-κB [97].

Ca²⁺-зависимые протеазы (кальпаины). Предполагается, что основная роль кальпаина-1 в апоптозе нейтрофилов состоит в расщеплении Вах и образовании активного фрагмента. Этот фрагмент связывается с Bid и интегрируется во внешнюю мембрану митохондрий, образуя белок-проводящие мегапоры для апоптогенных факторов митохондрий [98]. Снижение в нейтрофилах уровня кальпастина, являющегося специфическим эндогенным ингибитором кальпаина, вызывает активацию кальпаина-1 и развитие последующих этапов апоптоза [98].

Каспазы и их ингибиторы. Каспазы участвуют в процессах пролиферации, дифференцировки и апоптоза в различных типах клеток [99, 100]. Каспазы являются цистеиновыми протеазами, которые расщепляют белки после остатка аспарагиновой кислоты. Ограниченный каспазный протеолиз может приводить к инактивации одних белков и повышению биологической активности других белков. Структура и механизм активации каспаз подробно освещены в ряде отечественных обзоров [99].

В нейтрофилах выявлена экспрессия каспаз -1, -3, -4, -6, -7, -8, -9 и -10, но не обнаруживается каспаза-2 [101]. В зависимости от выполняемых функций эти каспазы могут быть разделены на три группы: каспазы, участвующие в процессинге цитокинов (каспазы -1 и -4), инициирующие каспазы (-8, -9 и -10) и эффекторные каспазы (-3, -6 и -7) [100]. В ходе гранулоцитарной дифференцировки клеток HL-60 в них наблюдается увеличение экспрессии каспаз-1 и -3 [102]. Обработка нейтрофилов ингибиторами каспазы-1 или каспазы-3 блокирует спонтанный, стресс-индуцированный и Fas-опосредованный типы апоптоза [2].

Каспаза-3 является одной из основных протеаз, которая обуславливает морфологические изменения клеток в ходе их апоптоза: конденсацию хроматина, фрагментацию ядра и почкование плазматической мембраны [103]. Эта протеаза расщепляет ядерные и цитоплазматические белки, в том числе фодрин (мембранный скелетный неэритроидный спектрин), ламин В (ядерный белок, участвующий в организации хроматина), гельзолин (белок, ассоциированный с актиновыми микрофиламентами), мембранный белок виментин, STAT1 (signal transducer and activator of transcription-1), топоизомеразу 1 [104]. Все эти белки содержатся в нейтрофилах [98, 105]. Каспаза-3 расщепляет также защитные белки из

семейства Bcl-2, активируя, тем самым, процесс апоптоза [106]. Классическим субстратами каспазы-3 являются белки, участвующие в репарации ДНК и митозе: PARP (poly(ADP-ribose) polymerase), NuMA (nuclear protein that associates with the mitotic apparatus) и ДНК-зависимая протеинкиназа. Эти белки, однако, не обнаруживаются в зрелых нейтрофилах [107].

Эндогенными ингибиторами каспаз являются IAP [108]. Среди IAP исследователи выделяют XIAP, который является прямым ингибитором каспаз -3 и -9 [109]. В ходе нейтрофильной дифференцировки клеток HL-60 уровень XIAP снижается.

Гранзимы. Гранзимы А и В являются протеазами, которые используются Т-клетками естественными киллерами для инициации процесса апоптоза в клетках-мишенях. Гранзимы проникают в клетки-мишени через поры, образуемые перфоринном [99]. В присутствии Bid, белка семейства Bcl-2, гранзим В вызывает освобождение из митохондрий цитохрома с [110]. Хотя гранзим В содержится в нейтрофилах [111], его роль в апоптозе нейтрофилов остается пока неясной.

АФК. В различных типах клеток окислительный стресс вызывает активацию JNK и p38 MAPK-сигнальных путей, а также индуцирует освобождение из митохондрий цитохрома с и последующую каскадную активацию каспаз [112].

В нейтрофилах АФК могут выступать в роли, как регуляторов, так и эффекторов апоптоза [3, 113]. При высокой интенсивности генерации АФК нейтрофилами, например, в ответ на РМА (phorbol-12-myristate-13-acetate), апоптоз этих клеток протекает по каспазо-независимому пути [4]. Это связано с тем, что каспазы являются редокс-чувствительными ферментами, активность которых подавляется при окислении. АФК играют важную роль в фагоцитоз-индуцированном апоптозе. Этот тип апоптоза не наблюдается в нейтрофилах больных ХГЗ. Добавление к нейтрофилам H_2O_2 или фермент-субстратных комплексов, генерирующих АФК (ксантиноксидаза-ксантин, глюкозооксидаза-глюкоза), индуцирует апоптоз этих клеток [17, 114]. Напротив, инкубация нейтрофилов в условиях гипоксии значительно пролонгирует их выживание [115]. Нейтрофилы, дефицитные по миелопероксидазе и нейтрофилы больных ХГЗ имеют сниженную скорость апоптоза по сравнению с нейтрофилами нормальных животных и человека [17]. Предполагается, что апоптоз нейтрофилов, индуцированный противоопухолевым препаратом цитарабин, связан с активацией продукции митохондриями АФК [116]. Активация NADPH-оксидазы в клетках линии HL-60, дифференцированных в направлении гранулоцитарного фенотипа, вызывает окислительный стресс, перекисидацию мембранных фосфолипидов, истощение внутриклеточного GSH и появление морфологических признаков апоптоза [117]. Добавление к нормальным нейтрофилам антиоксидантных ферментов Cu,Zn-супероксиддисмутазы, Mn-супероксиддисмутазы или каталазы замедляет спонтанный апоптоз [17, 118]. Высказывается предположение, что генерация АФК и снижение внутриклеточной концентрации GSH являются важными факторами спонтанного апоптоза нейтрофилов [3, 70].

В настоящее время роль АФК в Fas- и TNFR-опосредованном апоптозе нейтрофилов однозначно не определена [118, 119]. Показано, что анти-Fas и анти-TNF антитела способны индуцировать апоптоз нейтрофилов от больных ХГЗ [17]. Скорость Fas-опосредованного апоптоза этих нейтрофилов была, однако, меньше, чем нейтрофилов от нормальных доноров [17]. Ватсон с соавт. [120] не выявили повышения продукции нейтрофилами АФК после их обработки анти-Fas антителами. Тем не менее, другие авторы [7] описывают активацию продукции АФК нейтрофилами в ответ на анти-Fas антитела, которая зависит от протеинкиназы C δ и каспазы-8. Они полагают, что каспазы могут активировать протеинкиназу C δ , вовлеченную в фосфорилирование субъединиц NADPH-оксидазы. Расхождение между исследователями может быть вызвано тем, что были использованы разные концентрации анти-Fas антител и время инкубации. В пользу участия АФК в Fas-опосредованном апоптозе говорят также данные об ингибировании этого пути гибели нейтрофилов каталазой [70]. В ходе Fas- и TNFR-опосредованного апоптоза нейтрофилов в них снижается внутриклеточная концентрация GSH [121]. Снижение концентрации GSH способствует, в свою очередь, повышению чувствительности клеток к Fas-опосредованному апоптозу; напротив, увеличение содержания внутриклеточного GSH блокирует проведение Fas-опосредованных сигналов клеточной смерти [120].

Антиоксидантная ферментативная система нейтрофилов имеет ряд специфических особенностей. В частности, в нейтрофилах обнаруживается высокая активность каталазы, но низкий уровень глутатион-зависимых ферментов. Окислительный стресс в нейтрофилах сопровождается снижением в них активности Cu,Zn-супероксиддисмутазы, что активирует процесс апоптоза [122]. АФК окисляют фосфатидилсерин плазматической мембраны нейтрофилов. Окисленный фосфатидилсерин рецептируется макрофагами, что способствует активному фагоцитозу апоптотных нейтрофилов.

Таким образом, большинство исследователей сходятся во мнении, что АФК принимают участие в спонтанном, фагоцитоз-индуцированном, Fas- и TNFR-опосредованном путях апоптоза нейтрофилов. Молекулярный механизм АФК-индуцированного апоптоза нейтрофилов может заключаться в истощении внутриклеточного пула GSH и секвестрации митохондрий, что приводит к освобождению митохондриальных апоптогенных факторов (рис. 1).

Следует отметить, что увеличение выживания нейтрофилов в условиях гипоксии не может быть однозначно объяснено снижением генерации АФК, поскольку этот эффект зависит от *de novo* синтеза белков и подавляется циклогексимидом. Действительно, в условиях гипоксии в нейтрофилах резко повышается экспрессия HIF-1 α (hypoxia inducible factor-1 α) и защитного белка Mcl-1 [115]. В механизме индуцированного гипоксией пролонгированного выживания нейтрофилов участвует также p38 MAPK [73].

Активные формы азота. Оксид азота (NO, nitric oxide) является сильным ингибитором транскрипционной активности NF- κ B и индуктором апоптоза нейтро-

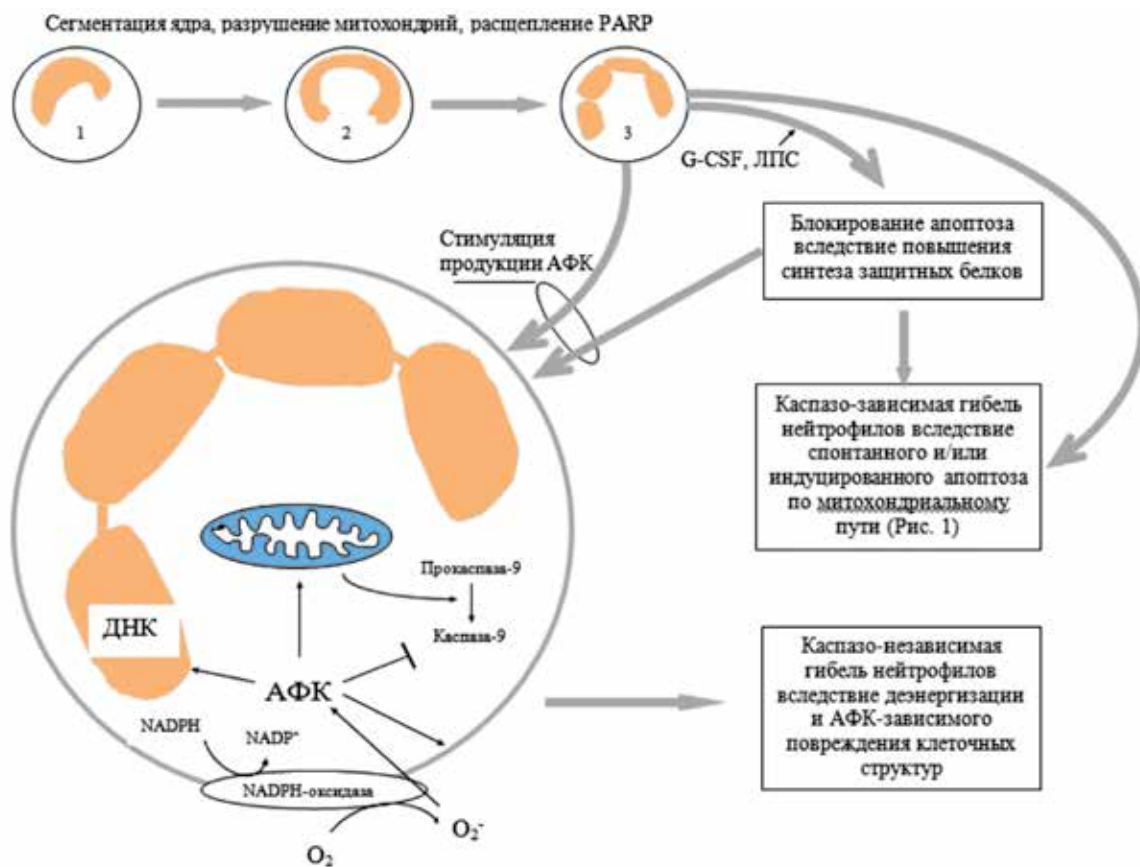


Рис. 2. Гипотетическая модель участия процессов апоптоза в регуляции реактивности нейтрофила (1 – нейтрофильный метамиелоцит, 2 – палочкоядерный нейтрофил, 3 – сегментоядерный нейтрофил, ЛПС - липополисахарид).

филов [123]. Различные доноры NO активируют апоптоз нейтрофилов [123, 124]. Показано, что NO-индуцированный апоптоз нейтрофилов зависит от активности каспаз, образования АФК и пероксинитрита, но протекает по сигнальному пути, независимому от cGMP (cyclic guanosine monophosphate) [124].

Заключение

В настоящее время на многих типах клеток показано, что апоптотические процессы являются неотъемлемой частью процессов клеточной дифференцировки [125]. В частности, увеличение активности каспазы-3 и снижение экспрессии XIAP наблюдается в ходе индуцированной дифференцировки клеток линий U-937 и HL-60 [126, 127]. Каспазы участвуют в деструкции ядер в эритроблестах, кератиноцитах и эпителиальных клетках хрусталика. Тромбоциты образуются путем фрагментации мегакариоцитов по механизму, который зависит от митохондрий, белков семейства Bcl-2 и каспаз [128]. Можно предположить, что апоптотические процессы также принимают активное участие в процессах ремоделирования нейтрофилов в ходе их терминальной дифференцировки в костном мозге. С их помощью удаляется большая часть митохондрий и/или инактивируется их энергетическая функция, происходит перестройка ядра, эндоплазматического ретикулума и других клеточных компартментов.

Расщепление каспазой-6 ядерных ламинов, по-видимому, необходимо для нормального процесса сегментации ядра нейтрофилов [101]. Преобладание в нейтрофилах активности апоптогенных белков (Bax, Bid, Bak, Bad) над интегральной активностью защитных белков (Mcl-1, Bcl-X_L, A1), вероятно, формируется еще у миелоцитарных предшественников для выполнения соответствующих процессов дифференцировки. Инактивация энергетической функции митохондрий может обуславливать компенсаторное формирование микрокомпарментов системы гликолиза нейтрофилов [129]. Это, очевидно, необходимо для предупреждения конкуренции за кислород между митохондриями и NADPH-оксидазной системой нейтрофилов. Кроме того, митохондрии являются ненадежным источником энергии при окислительном стрессе.

Поддержание структурной стабильности компартментов в зрелых нейтрофилах может осуществляться путем активации NF-κB и синтеза защитных белков. Повышение транскрипционной активности NF-κB наблюдается в ходе терминальной дифференцировки различных типов клеток [130]. В отношении нейтрофилов активация транскрипционной активности NF-κB и синтез преимущественно защитных факторов, таких как Mcl-1, A1 и ингибиторов каспаз отмечается при действии на эти клетки провоспалительных медиаторов и цитокинов (липополисахариды, G-CSF, GM-CSF). Если после выхода из костного мозга нейтрофилы не подвергаются

воздействию факторов, способных активировать в них синтетические и репарационные процессы, то клетки погибают в результате дальнейшего развития апоптоза.

Нейтрофил является терминально дифференцированной клеткой, которая не способна вернуться в митотический цикл. Способность к делению исчезает уже у нейтрофильных метамиелоцитов. В зрелых нейтрофилах отсутствуют белки, участвующие в митозе и репарации ДНК: PARP, NuMA, ДНК-зависимая протеинкиназа [107]. Экспрессия PARP прогрессивно снижается в ходе гранулоцитарной дифференцировки трансформированных промиелоцитарных клеток [131]. Незначительная экспрессия в нейтрофилах белка p53, являющегося «стражем генома», не ассоциирована со скоростью их апоптоза [131]. На многих типах клеток показано, что АФК-зависимое повреждение ДНК вызывает гиперактивацию PARP, быстрое истощение АТФ и NAD⁺ и гибель клеток [132, 133]. Таким образом, можно предположить, что расщепление PARP каспазой-3 и переход на гликолиз предупреждает быструю гибель нейтрофилов, которые интенсивно генерируют супероксидный радикал.

Как в условиях *in vivo*, так и *in vitro* нейтрофилы могут находиться в покоящемся, примированном или стимулированном состояниях [134]. Спонтанный апоптоз протекает в покоящихся (нестимулированных) нейтрофилах. Примирование нейтрофилов приводит к значительному увеличению их ответа на последующее стимулирующее действие [134, 135]. В настоящем обзоре рассмотрены механизмы регуляции апоптоза, главным образом, покоящихся и примированных нейтрофилов. В нейтрофилах, находящихся в этих метаболических состояниях рецептор-опосредованная активация апоптоза протекает с участием факторов митохондриального происхождения. Фагоцитоз, а также высокие концентрации РМА вызывают стимуляцию нейтрофилов, которая характеризуется «респираторным взрывом» и дегрануляцией. В нейтрофилах, активно секретирующих АФК, митохондриальный путь активации апоптоза не играет значительной роли. Основной причиной гибели этих нейтрофилов, по-видимому, является их дезэнергизация и АФК-зависимое повреждение клеточных структур.

Гипотетическая модель участия апоптотических процессов в дифференцировке и обеспечении функциональной активности нейтрофилов представлена на рис. 2. Апоптотические процессы, обуславливают, в частности, формирование нейтрофилов с внутриклеточным аппаратом, оптимальным для выполнения «респираторного взрыва», фагоцитоза и других функций. С другой стороны, физиологическое значение апоптоза нейтрофилов, очевидно, состоит в регуляции интегральной активностью этих клеток. Наблюдаемая при некоторых патологических состояниях ассоциация между скоростью апоптоза нейтрофилов и факторами, регулирующими этот процесс [104, 119], говорит в пользу такого предположения.

Обобщая сказанное можно заключить, что апоптоз определенного типа клеток является процессом дифференцировочной самодеструкции для вышележащего иерархического уровня (ткань, многоклеточный организм). Этот феномен известен как «программированная клеточная смерть», - процесс который необходим для

эмбрионального развития и поддержания гомеостаза многоклеточного организма. Взаимосвязь процессов клеточной дифференцировки и апоптоза органически простирается из феномена жизни.

Список литературы / References

1. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. *Очерки о нейтрофиле и макрофаге*. Новосибирск: Наука, 1983; 256 с. / Mayanskiy A.N., Mayanskiy D.N. [Essays on the neutrophil and macrophage]. Novosibirsk: Nauka, 1983. 256 p. (in Russian)
2. Teng T.S., Ji A.L., Ji X.Y., Li Y.Z. Neutrophils and Immunity: From Bactericidal Action to Being Conquered. *J. Immunol. Res.* 2017; 2017: 9671604. DOI: 10.1155/2017/9671604
3. Watson R. W. Redox regulation of neutrophil apoptosis. *Antioxid. Redox Signal.* 2002; 4(1):97-104. DOI: 10.1089/152308602753625898
4. Chen H.C., Wang C.J., Chou C.L., Lin S.M., Huang C.D., Lin T.Y., Wang C.H., Lin H.C., Yu C.T., Kuo H.P., Liu C.Y. Tumor necrosis factor-alpha induces caspase-independent cell death in human neutrophils via reactive oxidants and associated with calpain activity. *J. Biomed. Sci.* 2006; 13(2): 261-273. DOI: 10.1007/s11373-005-9052-8
5. Ogier-Denis E., Codogno P. Autophagy: a barrier or an adaptive response to cancer. *Biochim. Biophys. Acta.* 2003; 1603(2): 113-128.
6. Lockshin R.A., Zakeri Z. Caspase-independent cell deaths. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2002; 14(6): 727-733.
7. Zhao M., Xia L., Chen G.Q. Protein kinase cδ in apoptosis: a brief overview. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. 2012; 60(5): 361-372. DOI: 10.1007/s00005-012-0188-8
8. Kokkonen T.S., Karttunen T.J. Fas/Fas ligand-mediated apoptosis in different cell lineages and functional compartments of human lymph nodes. *J. Histochem. Cytochem.* 2010; 58(2): 131-140. DOI: 10.1369/jhc.2009.954669
9. Hofman P. Molecular regulation of neutrophil apoptosis and potential targets for therapeutic strategy against the inflammatory process. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy.* 2004; 3(1): 1-9. DOI: 10.2174/1568010043483935
10. Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science.* 2002; 296(5573): 1635-1636. DOI: 10.1126/science.1071553
11. O'Donnell J.A., Kennedy C.L., Pellegrini M., Nowell C.J., Zhang J.G., O'Reilly L.A., Cengia L., Dias S., Masters S.L., Hartland E.L., Roberts A.W., Gerlic M., Croker B.A. Fas regulates neutrophil lifespan during viral and bacterial infection. *J. Leukoc. Biol.* 2015; 97(2): 321-326. DOI: 10.1189/jlb.3AB1113-594RR
12. Park D.R., Thomsen A.R., Frevert C.W., Pham U., Skerrett S.J., Kiener P.A., Liles W.C. Fas (CD95) induces proinflammatory cytokine responses by human monocytes and monocyte-derived macrophages. *J. Immunol.* 2003; 170(12) 6209-6216. DOI: 10.4049/jimmunol.170.12.6209
13. Dupont P.J., Warrens A.N. Fas ligand exerts its pro-inflammatory effects via neutrophil recruitment but not activation. *Immunology.* 2007; 120(1): 133-139. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2006.02504.x
14. Villunger A., O'Reilly L.A., Holler N., Adams J., Strasser A. Fas ligand, Bcl-2, granulocyte colony-stimulating factor, and p38 mitogen-activated protein kinase: Regulators of distinct cell death and survival pathways in granulocytes. *J. Exp. Med.* 2000; 192(5): 647-658.
15. Vinokurov M.G., Iurinskaia M.M., Pechatnikov V.A. Mercury ions inhibit human neutrophil apoptosis induced by ultraviolet c irradiation. *Biophysics.* 2002; 47(4): 683-685.
16. Zhang B., Hirahashi J., Cullere X., Mayadas T.N. Elucidation of molecular events leading to neutrophil apoptosis following phagocytosis: cross-talk between caspase 8, reactive oxygen species, and MAPK/ERK activation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(31): 28443-2854. DOI: 10.1074/jbc.M210727200
17. El Kebir D., Filep J.G. Targeting neutrophil apoptosis for enhancing the resolution of inflammation. *Cells.* 2013; 2(2): 330-348. DOI: 10.3390/cells2020330
18. Maianski N.A., Geissler J., Srinivasula S.M., Alnemri E.S., Roos D., Kuijpers T.W. Functional characterization of mitochondria in neutrophils: a role restricted to apoptosis. *Cell Death Differ.* 2004; 11(2): 143-153. DOI: 10.1038/sj.cdd.4401320
19. Rowe S.J., Allen L., Ridger V.C., Hellewell P.G., Whyte M.K. Caspase-1-deficient mice have delayed neutrophil apoptosis and a

- prolonged inflammatory response to lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *J. Immunol.* 2002; 169(11): 6401-6407.
20. Kotani J., Avallone N.J., Lin E., Goshima M., Gandhi K., Lowry S.F., Calvano S.E. Fas-mediated neutrophil apoptosis and associated A1 protein expression during systemic inflammation are regulated independently of both tumor necrosis factor receptors. *Shock.* 2003; 19(3): 201-207.
 21. Le Cloennec C., Ouk T.S., Youlyouz-Marfak I., Panteix S., Martin C.C., Rastelli J., Adriaenssens E., Zimmer-Strobl U., Coll J., Feuillard J., Jayat-Vignoles C. Molecular basis of cytotoxicity of Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein 1 (LMP1) in EBV latency III B cells: LMP1 induces type II ligand-independent autoactivation of CD95/Fas with caspase 8-mediated apoptosis. *J. Virol.* 2008; 82(13): 6721-6733. DOI: 10.1128/JVI.02250-07
 22. Alenzi F.Q., Marley S.B., Lewis J.L., Chandrashekar A., Warrens A.N., Goldman J.M., Gordon M.Y. A role for the Fas/Fas ligand apoptotic pathway in regulating myeloid progenitor cell kinetics. *Exp. Hematol.* 2002; 30(12): 1428-1435. DOI:10.1016/S0301-472X(02)00957-8
 23. McCracken J.M., Allen L.A. Regulation of human neutrophil apoptosis and lifespan in health and disease. *J. Cell Death.* 2014; 7: 15-23. DOI:10.4137/JCD.S11038
 24. Wajant H. Death receptors. *Essays Biochem.* 2003; 39: 53-71.
 25. Zelová H., Hošek J. TNF- α signalling and inflammation: interactions between old acquaintances. *Inflamm. Res.* 2013;62(7): 641-651. DOI:10.1007/s00011-013-0633-0
 26. Liu C.Y., Takemasa A., Liles W.C., Goodman R.B., Jonas M., Rosen H., Chi E., Winn R.K., Harlan J.M., Chuang, P.I. Broad-spectrum caspase inhibition paradoxically augments cell death in TNF- α -stimulated neutrophils. *Blood.* 2003; 101(1): 295-304.
 27. Murray J., Barbara J.A., Dunkley S.A., Lopez A.F., Van Ostade X., Condliffe A.M., Dransfield I., Haslett C., Chilvers E.R. *Blood.* 1997; 90: 2772-2783.
 28. Harper N., Hughes M., MacFarlane M., Cohen G.M. Fas-associated death domain protein and caspase-8 are not recruited to the tumor necrosis factor receptor 1 signaling complex during tumor necrosis factor-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(28): 25534-2541.
 29. Avdi N.J., Nick J.A., Whitlock B.B., Billstrom M.A., Henson P.M., Johnson G.L., Worthen G.S. Tumor necrosis factor- α activation of the c-Jun N-terminal kinase pathway in human neutrophils. Integrin involvement in a pathway leading from cytoplasmic tyrosine kinases apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(3): 2189-2199. DOI: 10.1074/jbc.M007527200
 30. Harper N., Hughes M.A., Farrow S.N., Cohen G.M., MacFarlane M. Protein kinase C modulates tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis by targeting the apical events of death receptor signaling. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(45): 44338-4447. DOI: 10.1074/jbc.M307376200
 31. Маянский Н.А., Росс Д., Кайсперс Т. Каспазозависимый путь клеточной гибели нейтрофилов человека, индуцированный TNF- α . *Цитокины и воспаление.* 2003; 2(1): 29-35. / Mayanskiy N.A., Ross D., Kayaspers T. [Caspase-independent pathway of human neutrophil cell death induced by TNF α]. *Tsitokiny i vospalenie [Cytokines and inflammation]*. 2003; 2(1): 29-35. (in Russian)
 32. Salamone G., Giordano M., Trevani A.S., Gamberale R., Vermeulen M., Schettini J., Geffner J.R. Promotion of neutrophil apoptosis by TNF- α . *J. Immunol.* 2001; 166: 3476-3483.
 33. Jain M.V., Paczulla A.M., Klonisch T., Dimgba F.N., Rao S.B., Roberg K., Schweizer F., Lengerke C., Davoodpour P., Palicharla V.R., Maddika S., Los M. Interconnections between apoptotic, autophagic and necrotic pathways: implications for cancer therapy development. *J. Cell Mol. Med.* 2013; 17(1): 12-29. DOI: 10.1111/jcmm.12001
 34. Zheng Y., Ouaz F., Bruzzo P., Singh V., Gerondakis S., Beg A.A. NF- κ B RelA (p65) is essential for TNF- α -induced Fas expression but dispensable for both TCR-induced expression and activation-induced cell death. *J. Immunol.* 2001; 166(8): 4949-4957. DOI: 10.4049/jimmunol.166.8.4949
 35. Vancurova I., Miskolci V., Davidson D. NF- κ B activation in tumor necrosis factor alpha-stimulated neutrophils is mediated by protein kinase Cdelta. Correlation to nuclear I κ Balpha. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(23): 19746-19752. DOI: 10.1074/jbc.M100234200
 36. Kilpatrick L.E., Lee J.Y., Haines K.M., Campbell D.E., Sullivan K.E., Korchak H.M. A role for PKC- δ and PI 3-kinase in TNF- α -mediated antiapoptotic signaling in the human neutrophil. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002; 283(1): 48-57. DOI: 10.1152/ajpcell.00385.2001
 37. Dunican A.L., Leuenroth S.J., Grutkoski P., Ayala A., Simms H.H. TNF alpha-induced suppression of PMN apoptosis is mediated through interleukin-8 production. *Shock.* 2000; 4(3): 284-288.
 38. Daigle I., Simon H.U. Alternative functions for TRAIL receptors in eosinophils and neutrophils. *Swiss Med. Wkly.* 2001; 131(17-18): 231-237. DOI: 2001/17/smw-09707
 39. Elbim C., Lizard G. Flow cytometric investigation of neutrophil oxidative burst and apoptosis in physiological and pathological situations. *Cytometry A.* 2009; 75(6): 475-481. DOI: 10.1002/cyto.a.20726
 40. Zhang B., Hirahashi J., Cullere X., Mayadas T.N. Elucidation of molecular events leading to neutrophil apoptosis following phagocytosis: cross-talk between caspase 8, reactive oxygen species, and MAPK/ERK activation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(31): 28443-1854. DOI: 10.1074/jbc.M210727200
 41. Yuan X.M., Li W., Brunk U.T., Dalen H., Chang Y.H., Sevanian A. Lysosomal destabilization during macrophage damage induced by cholesterol oxidation products. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28(2): 208-218.
 42. Винокуров М.Г., Косякова Н.И., Николаева Н.Н., Печатников В.А. Модуляция нейтрофилаптоза периферической крови человека ультрафиолетовым излучением с-диапазона и гамма-облучением. *Биофизика.* 1999; 44(5): 929-930. / Vinokurov M.G., Kosyakova N.I., Nikolaeva N.N., Pechatnikov V.A. [Modulation of human peripheral blood neutrophil apoptosis with c-band ultraviolet radiation and gamma irradiation]. *Biofizika [Biophysics]*. 1999; 44(5): 929-930. (in Russian)
 43. Vinokurov M.G., Yurinskaya M.M., Dolgacheva N.N., Pechatnikov V.A. Dynamics of ultraviolet c-induced apoptosis of peripheral human blood neutrophils by the action of lipopolysaccharide and zinc. *Biophysics.* 2001; 46(6): 1151-1152.
 44. Didelot C., Schmitt E., Brunet M., Maingret L., Parcellier A., Garrido C. Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2006; 172: 171-198. DOI: 10.1007/3-540-29717-0_8
 45. Sweeney J.F., Nguyen P.K., Omann G., Hinshaw D.B. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor rescues human polymorphonuclear leukocytes from ultraviolet irradiation-accelerated apoptosis. *J. Surg. Res.* 1999; 81(1): 108-112. DOI: 10.1006/jsr.1998.5471
 46. Yurinskaya M.M., Kochetkova O.Y., Shabarchina L.I., Antonova O.Y., Suslikov A.V., Evgen'ev M.B., Vinokurov M.G. Encapsulated Hsp70 decreases endotoxin-induced production of ROS and TNF α in human phagocytes. *Cell Stress Chaperones.* 2017; 22(1): 163-171. DOI: 10.1007/s12192-016-0743-z
 47. Heasman S.J., Giles K.M., Ward C., Rossi A.G., Haslett C., Dransfield I. Glucocorticoid-mediated regulation of granulocyte apoptosis and macrophage phagocytosis of apoptotic cells: implications for the resolution of inflammation. *J. Endocrinol.* 2003; 178(1): 29-36. DOI: 10.1677/joe.0.1780029
 48. Healy D.A., Watson R.W., Newsholme P. Glucose, but not glutamine, protects against spontaneous and anti-Fas antibody-induced apoptosis in human neutrophils. *Clin. Sci. (Lond.)* 2002; 103(2): 179-189.
 49. Moulding D., Akgul C., Derouet M., White M., Edwards S. BCL-2 family expression in human neutrophils during delayed and accelerated apoptosis. *J. Leukoc. Biol.* 2001; 70(5): 783-792.
 50. Ohashi M., Iwase M., Nagumo M. Changes in susceptibility to Fas-mediated apoptosis during differentiation of HL-60 cells. *J. Leukoc. Biol.* 2000; 67(3): 374-380.
 51. Estaquier J., Vallette F., Vayssiere J.L., Mignotte B. The mitochondrial pathways of apoptosis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 942: 157-183. DOI:10.1007/978-94-007-2869-1_7
 52. Yin X.M. Signal transduction mediated by Bid, a pro-death Bcl-2 family proteins, connects the death receptor and mitochondria apoptosis pathways. *Cell Res.* 2000; 10(3): 161-167. DOI: 10.1038/sj.cr.7290045
 53. Sugiyama T., Shimizu S., Matsuoka Y., Yoneda Y., Tsujimoto Y. Activation of mitochondrial voltage-dependent anion channel by pro-apoptotic BH3-only protein Bim. *Oncogene.* 2002; 21(32): 4944-4956. DOI: 10.1038/sj.onc.1205621
 54. Roucou X., Rostovtseva T., Montessuit S., Martinou J.C., Antonsson B. Bid induces cytochrome c-impermeable Bax channels in liposomes. *Biochem. J.* 2002; 363 (Pt 3): 547-552.
 55. Cain K. Chemical-induced apoptosis: formation of the Apaf-1 apoptosome. *Drug Metab. Rev.* 2003; 35(4): 337-363. DOI: 10.1081/DMR-120026497

56. Murphy B.M., O'Neill A.J., Adrain C., Watson R.W., Martin S.J. The apoptosome pathway to caspase activation in primary human neutrophils exhibits dramatically reduced requirements for cytochrome C. *J. Exp. Med.* 2003; 197(5): 625-632.
57. Fossati G., Moulding D.A., Spiller D.G., Moots R.J., White M.R., Edwards S.W. The mitochondrial network of human neutrophils: role in chemotaxis, phagocytosis, respiratory burst activation, and commitment to apoptosis. *Immunol.* 2003; 170(4): 1964-1972.
58. Perečko T., Drábiková K., Nosál R., Harmatha J., Jančinová V. Involvement of caspase-3 in stilbene derivatives induced apoptosis of human neutrophils in vitro. *Interdiscip. Toxicol.* 2012; 5(2): 76-80. DOI: 10.2478/v10102-012-0013-6
59. Li K.J., Wu C.H., Shen C.Y., Kuo Y.M., Yu C.L., Hsieh S.C. Membrane Transfer from Mononuclear Cells to Polymorphonuclear Neutrophils Transduces Cell Survival and Activation Signals in the Recipient Cells via Anti-Extrinsic Apoptotic and MAP Kinase Signaling Pathways. *PLoS One.* 2016; 11(6): e0156262. DOI: 10.1371/journal.pone.0156262
60. Maianski N.A., Mul F.P., van Buul J.D., Roos D., Kuijpers T.W. Granulocyte colony-stimulating factor inhibits the mitochondria-dependent activation of caspase-3 in neutrophils. *Blood.* 2002; 99(2): 672-679.
61. Bazzoni F., Giovedi S., Kiefer M.C., Cassatella M.A. Analysis of the Bak protein expression in human polymorphonuclear neutrophils. *Int. J. Clin. Lab. Res.* 1999; 29(1): 41-45.
62. Orlofsky A., Somogyi R.D., Weiss L.M., Prystowsky M.B. The murine antiapoptotic protein A1 is induced in inflammatory macrophages and constitutively expressed in neutrophils. *J. Immunol.* 1999; 163(1): 412-419.
63. Miranda M.B., Dyer K.F., Grandis J.R., Johnson D.E. Differential activation of apoptosis regulatory pathways during monocytic vs granulocytic differentiation: a requirement for Bcl-X(L) and XIAP in the prolonged survival of monocytic cells. *Leukemia.* 2003; 17(2): 390-400. DOI: 10.1038/sj.leu.2402779
64. Kim J.S., Kim J.M., Jung H.C., Song I.S. Caspase-3 activity and expression of Bcl-2 family in human neutrophils by *Helicobacter pylori* water-soluble proteins. *Helicobacter.* 2001; 6(3): 207-215.
65. Abdelhaleem M.A. Role for the subcellular localization of Bax in differentiation-induced resistance to apoptosis in HL-60 cells. *Anticancer Res.* 2002; 22(1A): 177-181.
66. Hamasaki A., Sendo F., Nakayama K., Ishida N., Negishi I., Nakayama K., Hatakeyama S. Accelerated neutrophil apoptosis in mice lacking A1-a, a subtype of the bcl-2-related A1 gene. *J. Exp. Med.* 1998; 188(11): 1985-1992.
67. Weinmann P., Scharffetter-Kochanek K., Forlow S.B., Peters T., Walzog B. A role for apoptosis in the control of neutrophil homeostasis in the circulation: insights from CD18-deficient mice. *Blood.* 2003; 101(2): 739-746. DOI: 10.1182/blood-2002-01-0239
68. Takeda K., Matsuzawa A., Nishitoh H., Ichijo H. Roles of MAPKKK ASK1 in stress-induced cell death. *Cell Struct. Funct.* 2003; 28(1): 23-29.
69. Krump E., Sanghera J.S., Pelech S.L., Furuya W., Grinstein S. Chemotactic peptide N-formyl-met-leu-phe activation of p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) and MAPK-activated protein kinase-2 in human neutrophils. *J. Biol. Chem.* 1997; 272(2): 937-944.
70. Aoshiba K., Yasui S., Hayashi M., Tamaoki J., Nagai A. Role of p38-mitogen-activated protein kinase in spontaneous apoptosis of human neutrophils. *J. Immunol.* 1999; 162(3): 1692-1700.
71. Klein J.B., Rane M.J., Scherzer J.A., Coxon P.Y., Kettritz R., Mathiesen J.M., Buridi A., McLeish K.R. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor delays neutrophil constitutive apoptosis through phosphoinositide 3-kinase and extracellular signal-regulated kinase pathways. *J. Immunol.* 2000; 164(8): 4286-4291.
72. Avdi N.J., Malcolm K.C., Nick J.A., Worthen G.S. A role for protein phosphatase-2A in p38 mitogen-activated protein kinase-mediated regulation of the c-Jun NH(2)-terminal kinase pathway in human neutrophils. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(43): 40687-40696. DOI: 10.1074/jbc.M204455200
73. Sheth K., Friel J., Nolan B., Bankey P. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase increases lipopolysaccharide induced inhibition of apoptosis in neutrophils by activating extracellular signal-regulated kinase. *Surgery.* 2001; 130(2): 242-248.
74. Nolan B., Duffy A., Paquin L., De M., Collette H., Graziano C.M., Bankey P. Mitogen-activated protein kinases signal inhibition of apoptosis in lipopolysaccharide-stimulated neutrophils. *Surgery.* 1999; 126(2): 406-412.
75. Martin M.C., Dransfield I., Haslett C., Rossi A.G. Cyclic AMP regulation of neutrophil apoptosis occurs via a novel protein kinase A-independent signaling pathway. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(48): 45041-45050. DOI: 10.1074/jbc.M105197200
76. Köröskényi K., Joós G., Szondy Z. Adenosine in the Thymus. *Front. Pharmacol.* 2017; 8: 932. DOI: 10.3389/fphar.2017.00932
77. Insel P.A., Wilderman A., Zhang L., Keshwani M.M., Zambon A.C. CyclicAMP/PKA-promoted apoptosis: insights from studies of S49 lymphoma cells. *Horm. Metab. Res.* 2014; 46(12): 854-862. DOI: 10.1055/s-0034-1384519
78. Thompson E.B., Johnson B.H. Regulation of a distinctive set of genes in glucocorticoid-evoked apoptosis in CEM human lymphoid cells. *Recent Prog. Horm. Res.* 2003; 58: 175-197. DOI: 10.1210/rp.58.1.175
79. Krakstad C., Christensen A.E., Døskeland S.O. cAMP protects neutrophils against TNF-alpha-induced apoptosis by activation of cAMP-dependent protein kinase, independently of exchange protein directly activated by cAMP (Epac). *J. Leukoc. Biol.* 2004; 76(3): 641-417. DOI: 10.1189/jlb.0104005
80. M'Rabet L., Coffey P., Zwartkruis F., Franke B., Segal A.W., Koenderman L., Bos J.L. Activation of the small GTPase rap1 in human neutrophils. *Blood.* 1998; 92(6): 2133-2140.
81. Yang K.Y., Arcaroli J., Kupfner J., Pitts T.M., Park J.S., Strasshiem D., Perg R.P., Abraham E. Involvement of phosphatidylinositol 3-kinase gamma in neutrophil apoptosis. *Cell Signal.* 2003; 15(2): 225-233.
82. Li B., Desai S.A., MacCorkle-Chosnek R.A., Fan L., Spencer D.M. A novel conditional Akt 'survival switch' reversibly protects cells from apoptosis. *Gene Ther.* 2002; 9(4): 233-44. DOI: 10.1038/sj.gt.3301641
83. Fontayne A., Dang P.M., Gougerot-Pocidallo M.A., El-Benna J. Phosphorylation of p47phox sites by PKC alpha, beta II, delta, and zeta: effect on binding to p22phox and on NADPH oxidase activation. *Biochemistry.* 2002; 41(24): 7743-7750.
84. Parmer T.G., Ward M.D., Hait W.N. Effects of rottlerin, an inhibitor of calmodulin-dependent protein kinase III, on cellular proliferation, viability, and cell cycle distribution in malignant glioma cells. *Cell Growth Differ.* 1997; 8(3): 327-334.
85. Colomer J., Means A.R. Physiological roles of the Ca²⁺/CaM-dependent protein kinase cascade in health and disease. *Subcell Biochem.* 2007; 45: 169-214. DOI: 10.1007/978-1-4020-6191-2_7
86. Yousefi S., Simon H.U. SHP-1: a regulator of neutrophil apoptosis. *Semin. Immunol.* 2003; 15(3): 195-199.
87. Liu Q., Sasaki T., Kozieradzki I., Wakeham A., Itie A., Dumont D.J., Penninger J.M. SHIP is a negative regulator of growth factor receptor-mediated PKB/Akt activation and myeloid cell survival. *Genes Dev.* 1999; 13(7): 786-791.
88. Gardai S., Whitlock B.B., Helgason C., Ambruso D., Fadok V., Bratton D., Henson P.M. Activation of SHIP by NADPH oxidase-stimulated Lyn leads to enhanced apoptosis in neutrophils. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(7): 5236-5246. DOI: 10.1074/jbc.M110005200
89. Haslbeck M. sHsps and their role in the chaperone network. *Cell Mol. Life Sci.* 2002; 59(10): 1649-1657.
90. Bruey J.M., Ducasse C., Bonniaud P., Ravagnan L., Susin S.A., Diaz-Latoud C., Gurbuxani S., Arrigo A.P., Kroemer G., Solary E., Garrido C. Hsp27 negatively regulates cell death by interacting with cytochrome c. *Nat. Cell Biol.* 2000; 2(9): 645-652. DOI: 10.1038/35023595
91. Saleh A., Srinivasula S.M., Balkir L., Robbins P.D., Alnemri E.S. Negative regulation of the Apaf-1 apoptosome by Hsp70. *Nat. Cell Biol.* 2000; 2(8): 476-483. DOI: 10.1038/35019510
92. Pandey P., Saleh A., Nakazawa A., Kumar S., Srinivasula S.M., Kumar V., Weichselbaum R., Nalin C., Alnemri E.S., Kufe D., Kharbanda S. Negative regulation of cytochrome c-mediated oligomerization of Apaf-1 and activation of procaspase-9 by heat shock protein 90. *EMBO J.* 2000; 19(16): 4310-4322. DOI: 10.1093/emboj/19.16.4310
93. Niwa M., Hotta K., Kanamori Y., Hatakeyama D., Hirade K., Katayama M., Hara A., Mori H., Ito H., Kato K., Matsuno H., Uematsu T., Kozawa O. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase in heat shock protein 27 induction in human neutrophils. *Eur. J. Pharmacol.* 2003; 466(3): 245-253.
94. Rane M.J., Pan Y., Singh S., Powell D.W., Wu R., Cummins T., Chen Q., McLeish K.R., Klein J.B. Heat shock protein 27 controls apoptosis by regulating Akt activation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278(30): 27828-27835. DOI: 10.1074/jbc.M303417200

95. Sung B., Pandey M.K., Nakajima Y., Nishida H., Konishi T., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. Identification of a novel blocker of IkappaBalpha kinase activation that enhances apoptosis and inhibits proliferation and invasion by suppressing nuclear factor-kappaB. *Mol. Cancer Ther.* 2008; (1): 91-201. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-07-0406
96. Rahman I., MacNee W. Regulation of redox glutathione levels and gene transcription in lung inflammation: therapeutic approaches. *Free Radic. Biol. Med.* 2000; 28(9): 1405-1420.
97. Sabroe I., Prince L.R., Jones E.C., Horsburgh M.J., Foster S.J., Vogel S.N., Dower S.K., Whyte M.K. Selective roles for Toll-like receptor (TLR)2 and TLR4 in the regulation of neutrophil activation and life span. *J. Immunol.* 2003; 170(10): 5268-5275.
98. Knepper-Nicolai B., Savill J., Brown S.B. Constitutive apoptosis in human neutrophils requires synergy between calpains and the proteasome downstream of caspases. *J. Biol. Chem.* 1998; 273(46): 30530-30536.
99. Мартынова Е.А. Регуляция активности каспазы при апоптозе. *Биоорганическая химия.* 2003; 29(5): 518-543. / Martynova E.A. [Regulation of caspase activity during apoptosis]. *Bioorganicheskaya Khimiya [Bioorganic chemistry]*. 2003; 29(5): 518-543. (in Russian)
100. Algeciras-Schimmich A., Barnhart B.C., Peter M.E. Apoptosis-independent functions of killer caspases. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2002; 14(6): 721-726.
101. Niu G., Yin S., Xie S., Li Y., Nie D., Ma L., Wang X., Wu Y. Quercetin induces apoptosis by activating caspase-3 and regulating Bcl-2 and cyclooxygenase-2 pathways in human HL-60 cells. *Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai)*. 2011; 43: 30-37. DOI: 10.1093/abbs/gmq107
102. Porter A.G., Jänicke R.U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ.* 1999; 6(2): 99-104. DOI: 10.1038/sj.cdd.4400476
103. Mazumdar B., Meyer K., Ray R. N-terminal region of gelsolin induces apoptosis of activated hepatic stellate cells by a caspase-dependent mechanism. *PLoS One.* 2012; 7(8): e44461 DOI: 10.1371/journal.pone.0044461
104. Slee E.A., Adrain C., Martin S.J. Executioner caspase-3, -6, and -7 perform distinct, non-redundant roles during the demolition phase of apoptosis. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(10): 7320-7326. DOI: 10.1074/jbc.M008363200
105. Epling-Burnette P.K., Zhong B., Bai F., Jiang K., Bailey R.D., Garcia R., Jove R., Djeu J.Y., Loughran T.P.Jr., Wei S. Cooperative regulation of Mcl-1 by Janus kinase/stat and phosphatidylinositol 3-kinase contribute to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-delayed apoptosis in human neutrophils. *J. Immunol.* 2001; 166(12): 7486-7495.
106. Dah M.E., Arai K.I., Watanabe S. Association of Lyn tyrosine kinase to the GM-CSF and IL-3 receptor common beta c subunit and role of Src tyrosine kinases in DNA synthesis and anti-apoptosis. *Genes Cells.* 2000; 5(2): 143-153. DOI: 10.1046/j.1365-2443.2000.00312.x
107. Hasegawa T., Suzuki K., Sakamoto C., Ohta K., Nishiki S., Hino M., Tatsumi N., Kitagawa S. Expression of the inhibitor of apoptosis (IAP) family members in human neutrophils: up-regulation of cIAP2 by granulocyte colony-stimulating factor and overexpression of cIAP2 in chronic neutrophilic leukemia. *Blood.* 2003; 101(3): 1164-1171.
108. Deveraux Q.L., Roy N., Stennicke H.R., Van Arsdale T., Zhou Q., Srinivasula S.M., Alnemri E.S., Salvesen G.S., Reed J.C. IAPs block apoptotic events induced by caspase-8 and cytochrome c by direct inhibition of distinct caspases. *EMBO J.* 1998; 17(8): 2215-2223. DOI: 10.1093/emboj/17.8.2215
109. Miranda M.B., Dyer K.F., Grandis J.R., Johnson D.E. Differential activation of apoptosis regulatory pathways during monocytic vs granulocytic differentiation: a requirement for Bcl-X(L) and XIAP in the prolonged survival of monocytic cells. *Leukemia.* 2003; 17(2): 390-400. DOI: 10.1038/sj.leu.2402779.
110. Wagner C., Iking-Konert C., Deneff B., Stegmaier S., Hug F., Hänsch G.M., Granzyme B and perforin: constitutive expression in human polymorphonuclear neutrophils. *Blood.* 2004; 103(3): 1099-1104. DOI: 10.1182/blood-2003-04-1069
111. Ueda S., Masutani H., Nakamura H., Tanaka T., Ueno M., Yodoi J. Redox control of cell death. *Antioxid. Redox. Signal.* 2002; 4(3): 405-414. DOI: 10.1089/15230860260196209
112. Curi T.C., De Melo M.P., Palanch A.C., Miyasaka C.K., Curi R. Percentage of phagocytosis, production of O₂·, H₂O₂ and NO, and antioxidant enzyme activities of rat neutrophils in culture. *Cell Biochem. Funct.* 1998; 16(1): 43-49. DOI: 10.1002/(SICI)1099-0844(199803)16:1<43::AID-CBF761>3.0.CO;2-5
113. Mayadas T.N., Cullere X. Neutrophil beta 2 integrins: moderators of life or death decisions. *Trends Immunol.* 2005; 26(7): 388-395. DOI: 10.1016/j.it.2005.05.002
114. Marwick J.A., Dorward D.A., Lucas C.D., Jones K.O., Sheldrake T.A., Fox S., Ward C., Murray J., Brittan M., Hirani N., Duffin R., Dransfield I., Haslett C., Rossi A.G. Oxygen levels determine the ability of glucocorticoids to influence neutrophil survival in inflammatory environments. *J. Leukoc. Biol.* 2013; 94(6): 1285-1292. DOI: 10.1189/jlb.0912462
115. Iacobini M., Menichelli A., Palumbo G., Multari G., Werner B., Del Principe D. Involvement of oxygen radicals in cytarabine-induced apoptosis in human polymorphonuclear cells. *Biochem. Pharmacol.* 2001; 61(8): 1033-1040.
116. Arroyo A., Modrianskø M., Serinkan F.B., Bello R.I., Matsura T., Jiang J., Tyurin V.A., Tyurina Y.Y., Fadeel B., Kagan V.E. NADPH oxidase-dependent oxidation and externalization of phosphatidylserine during apoptosis in Me2SO-differentiated HL-60 cells. Role in phagocytic clearance. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(51): 49965-49975.
117. Oishi K., Machida K. Inhibition of neutrophil apoptosis by antioxidants in culture medium. *Scand. J. Immunol.* 1997; 45(1): 21-27.
118. Melley D.D., Evans T.W., Quinlan G.J. Redox regulation of neutrophil apoptosis and the systemic inflammatory response syndrome. *Clin. Sci. (Lond)*. 2005; 108(5): 413-424. DOI: 10.1042/CS20040228
119. Condon C., Neary P., Toomey D., Redmond H.P., Bouchier-Hayes D. Taurine attenuates calcium-dependent, Fas-mediated neutrophil apoptosis. *Shock.* 2003; 19(6): 564-549. DOI: 10.1097/01.shk.0000055814.40894.5f
120. Watson R.W., Rotstein O.D., Jimenez M., Parodo J., Marshall J.C. Augmented intracellular glutathione inhibits Fas-triggered apoptosis of activated human neutrophils. *Blood.* 1997; 89(11): 4175-4181.
121. Kinnula V.L., Soini Y., Kvist-Mäkelä K., Savolainen E.R., Koistinen P. Antioxidant defense mechanisms in human neutrophils. *Antioxid. Redox. Signal.* 2002; 4(1): 27-34.
122. Fadeel B., Kagan V.E. Apoptosis and macrophage clearance of neutrophils: regulation by reactive oxygen species. *Redox. Rep.* 2003; 8(3): 143-150. DOI: 10.1179/135100003225001511
123. Ward C., Wong T.H., Murray J., Rahman I., Haslett C., Chilvers E.R., Rossi A.G. Induction of human neutrophil apoptosis by nitric oxide donors: evidence for a caspase-dependent, cyclic-GMP-independent, mechanism. *Biochem. Pharmacol.* 2000; 59(3): 305-314.
124. Cedergren J., Follin P., Forslund T., Lindmark M., Sundqvist T., Skogh T. Inducible nitric oxide synthase (NOS II) is constitutive in human neutrophils. *APMIS.* 2003; 111(10): 963-968. DOI: 10.1034/j.1600-0463.2003.1111008.x
125. Algeciras-Schimmich A., Barnhart B.C., Peter M.E. Apoptosis-independent functions of killer caspases. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2002; 14(6): 721-726.
126. Doyle B.T., O'Neill A.J., Newsholme P., Fitzpatrick J.M., Watson R.W. The loss of IAP expression during HL-60 cell differentiation is caspase-independent. *J. Leukoc. Biol.* 2002; 71(2): 247-254.
127. Sordet O., Rébé C., Plenchette S., Zermati Y., Hermine O., Vainchenker W., Garrido C., Solary E., Dubrez-Daloz L. Specific involvement of caspases in the differentiation of monocytes into macrophages. *Blood.* 2002; 100(13): 4446-4453.
128. Kaluzhny Y., Yu G., Sun S., Toselli P.A., Nieswandt B., Jackson C.W., Ravid K. BclxL overexpression in megakaryocytes leads to impaired platelet fragmentation. *Blood.* 2002; 100(5): 1670-1678. DOI: 10.1182/blood-2001-12-0263
129. Skulachev V.P. Mitochondrial physiology and pathology; concepts of programmed death of organelles, cells and organisms. *Mol. Aspects Med.* 1999; 20(3): 139-184.
130. Seitz C.S., Freiberg R.A., Hinata K., Khavari P.A. NF-kappaB determines localization and features of cell death in epidermis. *J. Clin. Invest.* 2000; 105(3): 253-260.

-
131. Majewska E., Sulowska Z., Baj Z. Spontaneous apoptosis of neutrophils in whole blood and its relation to apoptosis gene proteins. *Scand. J. Immunol.* 2000; 52(5): 496-501.
132. Cole K.K., Perez-Polo J.R. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition prevents both apoptotic-like delayed neuronal death and necrosis after H₂O₂ injury. *J. Neurochem.* 2002; 82(1): 19-29.
133. Prikhodko A.S., Vitushkina M.V., Zinovkina L.A., Popova E.N., Zinovkin R.A. Priming of Human Neutrophils Is Necessary for Their Activation by Extracellular DNA. *Biochemistry.* 2016; 81(6): 609-614. DOI: 10.1134/S0006297916060079
134. Miralda I., Uriarte S.M., McLeish K.R. Multiple Phenotypic Changes Define Neutrophil Priming. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017; 7: 217. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00217
135. Chilvers E.R., Cadwallader K.A., Reed B.J., White J.F., Condliffe A.M. The function and fate of neutrophils at the inflamed site: prospects for therapeutic intervention. *J. R. Coll. Physicians Lond.* 2000; 34(1): 68-74.

Сведения об авторах:

Щепеткин Игорь Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Отделения микробиологии и иммунологии Университета штата Монтана (США); старший научный сотрудник Научно-образовательного центра Н.М.Кижнера Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет».

Буданова Ольга Петровна – старший научный сотрудник лаборатории регуляторных механизмов стресса и адаптации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Малышев Игорь Юрьевич – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией регуляторных механизмов стресса и адаптации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; профессор кафедры патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Аточин Дмитрий Николаевич – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Научно-образовательного центра Н.М.Кижнера Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», ассистент профессора медицины сердечно-сосудистого исследовательского центра отделения кардиологии Главного госпиталя штата Массачусеттс (США)