

Нефропатический цистиноз: современные представления об этиологии и патогенезе (Обзор литературы)

М.Ю. Каган

ГУЗ «Областная детская клиническая больница», г. Оренбург

Nephropathic cystinosis: current understanding of its etiology and pathogenesis

Review

M. Yu. Kagan

The Region Children Clinical Hospital Orenburg city

Ключевые слова: транспорт цистина, синдром Фанкони, глутатион.

Причиной цистиноза является мутация гена *CTNS*, кодирующего синтез лизосомального переносчика цистина. Накопление цистина внутри лизосом приводит к развитию у большинства пациентов генерализованной дисфункции проксимальных канальцев (синдром де Тони–Дебре–Фанкони) на первом году жизни и прогрессирующей хронической болезни почек в течение первой декады жизни. После десятилетнего возраста манифестируют клинические проявления, свидетельствующие о повреждении экстраренальных органов. Лечение цистеамином, снижающим внутриклеточную концентрацию цистина, значительно замедляет темпы прогрессирования заболевания, но не оказывает влияния на многие патогенетические механизмы. В этом обзоре обсуждаются новые представления об этиологии и патогенезе данного заболевания.

Cystinosis is caused by mutations in the *CTNS* gene that encodes a lysosomal cystine transporter, cystinosin. It is characterized by accumulation of cystine in the lysosomes throughout the body. In the majority of the patients, this leads to generalized proximal tubular dysfunction (also called DeToni–Debre–Fanconi syndrome) in the first year and progressive renal failure during the first decade. Extrarenal organs are also affected by cystinosis, where clinical symptoms are manifested mostly after 10 years of age. The cystine-depleting agent, cysteamine, significantly increases life expectancy of patients with cystinosis, but offers no cure due to the complexity of the disease mechanism. In this review, current knowledge on the pathogenesis of cystinosis is described.

Key words: cystine transport; Fanconi syndrome; glutathione.

Введение

Цистиноз был впервые описан швейцарским биохимиком Emil Abderhalden в 1903 году, обнаружившим отложение кристаллов цистина в печени и селезенке при постмертвом исследовании месячных младенцев ($n = 21$), в семьях которых ранее уже умерло два ребенка [1]. В дальнейшем, в 20–30-х годах XX века был опубликован ряд клинических наблюдений за детьми, страдавшими от сочетания проявлений рахита, задержки физического развития, глюкозурии и фосфатурии [14, 15, 19, 49]. У этих пациентов была выявлена тотальная проксимальная канальцевая дисфункция, названная синдромом де Тони–Дебре–Фанкони. Чаще, однако, применяется синонимичное название – ренальный синдром Фанкони.

В последующем на протяжении многих лет оставался неясным вопрос о том, являются ли цистиноз и ренальный синдром Фанкони двумя разными заболеваниями, или эти состояния представляют клинические

варианты одной болезни. В 1960-х годах с помощью электронной микроскопии и биохимических методов у значительной части детей с проксимальной канальцевой дисфункцией было обнаружено отложение кристаллов цистина и выраженное повышение его содержания внутри клеточных лизосом при нормальной его концентрации в крови [62, 78]. Стало понятно, что цистиноз является наиболее частой, хотя и не единственной причиной ренального синдрома Фанкони в раннем детском возрасте. Огромный шаг вперед был сделан в 1998 году, когда был клонирован ген *CTNS* [89]. Благодаря быстрым успехам молекулярной биологии был выявлен и новый белок цистинозин – лизосомальный переносчик цистина [41]. Было установлено, что дисфункция этого протеина, обусловленная биллельной мутацией гена *CTNS*, и приводит к данному заболеванию, сутью которого является нарушение трансмембранного транспорта цистина из лизосомы в цитозоль и накопление этой аминокислоты внутри клеточных лизосом.

Адрес для переписки: 460024, г. Оренбург, ул. Туркестанская 15а, кв. 37
Телефон: 8 3532 572004. Каган Михаил Юдович
E-mail: mkaganorenburg@yahoo.com

Первоначально предполагалось, что при цистинозе повреждаются только почки. Однако с развитием заместительной почечной терапии и продлением жизни больных с терминальной почечной недостаточностью стало очевидно, что с течением времени в патологический процесс вовлекаются многие органы и заболевание становится мультисистемным. Наряду с поражением почек у больных развивается патология глаз, щитовидной железы, гонад, эндокринной функции поджелудочной железы, повреждение печени и селезенки, периферических мышц и центральной нервной системы.

В настоящее время нет никакого сомнения в том, что назначение терапии цистеамином сразу же после подтверждения диагноза желательна в возрасте до 1 года, и продолжение этого лечения в течение всей последующей жизни является эффективной мерой, позволяющей уменьшить содержание цистина в лизосомах, отдалить и предотвратить многие осложнения болезни. Важным моментом лечения детей с цистинозом является симптоматическая терапия, направленная на компенсацию ренальных потерь воды и электролитов, дисфункции щитовидной железы, нарушений роста и т. д.

Из-за сходного звучания терминов цистиноз иногда путают с цистинурией. Важно отметить, что это совершенно разные заболевания, перечисление отличий которых не входит в цели данного обзора.

Нарушение транспорта цистина при цистинозе

В 1967 году Schneider et al. [78] впервые обнаружили увеличение уровня интрацеллюлярного цистина в гранулоцитах, а в 1968 году Patrick et al. [62], изучая электронную микроскопию лимфатических узлов пациентов с цистинозом, предположили, что накопление цистина возникает внутри лизосом. Goldman [33] и Reeves [69] в 1978 году разработали метод, позволяющий искусственно насыщать аминокислотами изолированные лизосомы, используя диметилэфирные этих аминокислот. В последующие годы ряд исследователей адаптировали этот метод для воспроизведения в эксперименте внутрилизосомального накопления цистина, сопоставимого количественно с уровнем, определяемым у больных цистинозом. Используя диметилэфирный эфир цистина (ДЭЦ), удавалось насыщать меченым цистиносом лизосомы, выделенные из цистинозных лейкоцитов и фибробластов, что позволило изучать кинетику цистина [81]. Было доказано, что причиной накопления цистина является дефект его выведения из лизосом в цитоплазму [27, 29]. После этих исследований несколько веществ было протестировано на способность снижать уровень внутриклеточного цистина. Такими свойствами в небольшой степени обладали 1,4-дигидроксибензойная и аскорбиновая кислоты [32, 45], но настоящий прорыв был достигнут при использовании аминокислоты цистеина, который остается и сегодня главным лекарством для лечения цистиноза [87]. Цистеин (Цистагон®) легко проникает в лизосомы и вступает в реакцию дисульфидного обмена с цистиносом (цистин является дисульфидом цистеина), в результате которой эквивалентно образуется молекула нового

дисульфидного соединения цистеин-цистеина и молекула цистеина [30]. Эти вещества свободно покидают лизосому через систему катионных транспортеров, минуя дефектный цистинозинный путь [66]. Эффективность цистеина может контролироваться в клинической практике путем мониторинга уровня внутриклеточного цистина в полиморфноядерных лейкоцитах. Было предложено несколько способов определения уровня внутриклеточного цистина для диагностики цистиноза и мониторинга терапии цистеамином. Жидкостная хроматография с последующей тандемной масс-спектрометрией является наиболее широко применяемым методом [8, 34]. К сожалению, синдром Фанкони не вылечивается цистеамином. Эта недостаточная эффективность цистеина не может быть объяснена дефектом проксимальной реабсорбции лекарства, т. к. препарат в очень небольшом количестве выделяется с мочой больных цистинозом [47]. В нескольких исследованиях изучался путь попадания цистина в цистинозные лизосомы. Экспериментальные данные с использованием меченого цистина в культуре цистинозных фибробластов продемонстрировали, что часть лизосомального цистина происходит из экстрацеллюлярного цистина, который поглощается лизосомой [13]. Протеолитические процессы внутри самой лизосомы также дают значительную аккумуляцию цистина, что было продемонстрировано инкубацией цистинозных фибробластов в культуральной среде, содержащей бычий сывороточный альбумин (БСА) [86]. Накопление цистина после инкубации с БСА может быть ингибировано с помощью лизосомотропного препарата хлорохина, что позволило, меняя условия эксперимента, доказать связь между протеолизом альбумина в лизосоме и аккумуляцией цистина. До сих пор остается неясным, в какой степени накопление цистина в клетках проксимальных канальцев обусловлено гидролизом реабсорбированных белков, а в какой степени апикальной реабсорбцией цистина.

Интересное исследование выполнили Jonas et al. [40]. Эти авторы показали, что выход цистина из лизосом зависит от активности протоновой АТФ-азы. Выход цистина из лизосом, заполненных ДЭЦ, стимулировался гидролизом экзогенной АТФ, и этот эффект отсутствовал в цистинозных лизосомах. Стимуляция активности протоновой АТФ-азы приводила к ацидификации лизосом как в контроле, так и при цистинозе и коррелировала с выходом цистина только из нормальных лизосом. Это исследование показало существование кооперации между двумя транспортными системами у здоровых людей [39].

В цитозоле большая часть цистина легко превращается в свободный цистеин с помощью клеточных окислительно-восстановительных систем, главной из которых является глутатионовая редокс-пара. В клетках проксимальных канальцев цистеин цитозоля является субстратом для нескольких транспортеров апикальной и базолатеральной мембран [20] и может образовываться *de novo* из метионина. Значительная часть внутриклеточного цистеина через γ -глутамиловый цикл способствует синтезу глутатиона. Интересно, что содержание 5-оксопролина, одного из промежуточных метаболитов этого цикла, увеличивается в моче цистинозных больных, не принимающих цистеин [71].

Молекулярные аспекты цистиноза

Вскоре после начального описания цистиноза стало понятно, что наследование заболевания происходит по аутосомно-рецессивному типу. Анализ сцепления позволил локализовать область на хромосоме 17p, находящуюся между маркерами D17S1583 и D17S796 [85]. В 1998 году ген *CTNS* был локализован в области 17p13.2 и успешно клонирован [89]. В последующие годы молекулярная диагностика позволила идентифицировать более 90 различных мутаций у пациентов с цистинозом [2, 3, 21, 23, 87]. Ген *CTNS* состоит из 12 экзонов, из которых два первых представляют некодирующие области. Этот ген имеет протяженность 23 kb и кодирует белок цистинозин, состоящий из 367 аминокислот. Наиболее частой мутацией, обнаруживаемой в Северной Европе приблизительно в 75% поврежденных аллелей, является делеция 57 kb [88], удаляющая первые девять и часть десятого экзона гена *CTNS*, верхнюю 5' область соседнего гена *CARKL* и первые два некодирующих экзона гена *TRPV1*. Функцией гена *CARKL* является фосфорилирование седогеоптулозы, промежуточного метаболита пентозно-фосфатного цикла [92]. Соответственно, пациенты с гомозиготной делецией 57 kb имеют повышение уровня седогеоптулозы в крови и моче, что может быть использовано для быстрого скрининга заболевания в семьях с этой мутацией. Фосфорилирование седогеоптулозы связано с пентозо-фосфатным циклом, поэтому данный дефект может вызывать нарушение внутриклеточных окислительно-восстановительных процессов. Так как пентозо-фосфатный цикл отвечает за образование НАДФ, можно предположить, что дефект *CARKL* может влиять на уровень этого вещества и нарушать внутриклеточные окислительно-восстановительные процессы [92]. Ген *TRPV1* кодирует ионный канал, который первично экспрессируется в чувствительных нервах и активируется различными химическими стимулами, такими как капсаицин и активные ингредиенты перца чили [59, 64]. Продукт транскрипции *TRPV1* участвует в различных биологических процессах, включая регуляцию сердечного ритма, механическую и термальную гипералгезию и психическое беспокойство. Значение повреждения генов *CARKL* и *TRPV1* в патогенезе цистиноза у больных с гомозиготной 57 kb делецией в настоящее время еще не полностью изучено, хотя можно предположить, что эти пациенты имеют более тяжелые экстраренальные проявления и более высокую смертность [26]. Кроме делеции 57 kb были описаны более мелкие делеции, инсерции, нонсенс мутации, миссенс мутации, мутации промоторных и сплайсинговых областей. Недавно Taranta et al. [84] идентифицировали интронные мутации в двух разных семьях в одной или обоих *CTNS* аллелях, нарушающие сплайсинг 5-го и 9-го экзонов. Эти результаты демонстрируют то обстоятельство, что цистиноз является моногенным заболеванием и сиквенс комплементарной ДНК должен выполняться в тех случаях, когда мутация не выявляется при сиквенсе гена. Изучение *in vitro* остаточной активности по транспорту цистина показало, что нефропатический цистиноз обычно является результатом тяжелых мутаций с полной потерей данной функции [42]. При этом у больных интрализосомальный уровень цистина воз-

растает в 100 раз по сравнению со здоровыми людьми, в то время как у гетерозиготных носителей выявляется только незначительное возрастание этого уровня без развития клинических симптомов. Эти наблюдения доказывают, что экспрессия одного нормального аллеля является достаточной для предотвращения значительной аккумуляции цистина [29].

Экспериментальные модели, применяемые для изучения цистиноза

Хотя основные механизмы лизосомального накопления цистина при цистинозе разгаданы, патогенез заболевания окончательно не выяснен. Для изучения тонких механизмов, приводящих к дисфункции клеток, были разработаны несколько исследовательских моделей.

Модель на животных

Так как цистиноз является системным заболеванием, были разработаны модели болезни на животных для изучения патологии различных органов. Насыщение цистином лизосом взрослых крыс с помощью ДЭЦ используется для воспроизведения в эксперименте цистинозного фенотипа [22]. Парентеральное введение 400 мкмоль ДЭЦ дважды в день вызывает развитие признаков синдрома Фанкони, таких как полиурия, фосфатурия, глюкозурия и аминокислотурия. Причем в последующие 4 дня клиренс креатинина и уровень ренального интрацеллюлярного цистина значительно не изменяются, в отличие от увеличения уровня цистина. Поэтому возникает вопрос о том, приводит ли в этой модели именно накопление цистина к развитию синдрома Фанкони, или ДЭЦ обладает специфическим токсическим эффектом, который не имеет отношения к патогенезу цистиноза.

Первая модель *ctns*^{-/-} нокаут мышей была получена при скрещивании штаммов 129Sv и C57BL/6 с замещением последних четырех экзонов *ctns* [9]. Было описано, что эта мутация приводит к полному прекращению цистинозин-зависимого транспорта цистина [4]. И хотя накопление цистина вызывает патологию зрения, мышц, костей и нервной системы у 129Sv X C57BL/6 *ctns*^{-/-} мышей, у них не возникает проксимальной канальцевой дисфункции и почечной недостаточности. Интересно, что в дальнейшем, после воспроизводства 10 поколений штамма C57BL/6, у *ctns*^{-/-} нокаут мышей в возрасте 15 месяцев развивается неполная тубулопатия и почечная недостаточность. Этого не происходит при скрещивании их с FVB/N мышами [57]. Эти результаты доказывают тот факт, что ренальный фенотип определяется генетическим базисом у мышей и позволяет высказать гипотезу о возможном влиянии модифицирующих генов на фенотип у человека [54]. С другой стороны, поражение глаз у этих мышей почти идентично тому, что наблюдается у людей с цистинозом [43].

Hippert et al. [37] пытался добиться обратного развития цистинозного фенотипа переносом здорового гена в больные клетки. Для этого путем трансдукции с использованием аденовирусного вектора в печень *ctns*^{-/-} мыши был введен «дикий тип» человеческого гена *CTNS*. В результате было показано, что перенос

гена может восстановить, по крайней мере, частично, лизосомальный транспорт цистина у молодых мышей (в возрасте 2–3 месяцев), но не оказывает эффекта у более старых мышей (в возрасте 5–9 месяцев), несмотря на эквивалентную эффективность трансдукции 20–75% [37]. Очень обещающие данные были недавно получены у C57BL/6 *ctns*^{-/-} нокаут мышей после трансплантации им сингенетических клеток костного мозга, взятых у мышей в возрасте 2–4 месяца, относящихся к штамму «дикого типа» [83]. После такой трансплантации уровень внутриклеточного цистина понизился более чем наполовину во всех исследуемых органах, включая почки, мозг и печень. Более того, была предотвращена прогрессия почечной недостаточности и заметно уменьшились кристаллы в роговице. Эти результаты трудно объяснить, учитывая количество пересаженных клеток (менее 15%), и требуются дальнейшие исследования для понимания этого феномена. Тем не менее данные этого эксперимента открывают новые перспективы для будущего лечения цистиноза.

In vitro модель

Большинство современных знаний о патогенезе цистиноза было получено на модели *in vitro*. Исследования, выполненные в 60–70-х годах XX столетия в основном на человеческих цистинозных лейкоцитах, фибробластах и клетках лимфатических узлов, позволили установить, что базисным дефектом при цистинозе является накопление цистина в лизосомах [62, 78, 79]. Для дальнейшего изучения биохимических процессов, лежащих в основе патогенеза ренального повреждения при цистинозе, наиболее подходящей моделью являются ренальные клеточные линии. В настоящее время для эксперимента доступны различные ренальные эпителиальные клетки. Недавно были изучены преимущества и недостатки каждого варианта [7]. Доступные коммерческие клеточные линии, полученные от свиней (LLC-PK), опоссумов (OK) и собак (MDCK), доказали свою пригодность для изучения мембранного транспорта [18, 31, 53]. Для более специфичного изучения транспортных систем в человеческих проксимальных канальцах были выработаны клеточные линии эпителия проксимальных канальцев человека, такие как НК-2 клеточная линия. Иммуортализация этих клеток была достигнута с помощью генов вируса папилломы человека HPV 16 E6/E7 [71, 72]. Альтернативно используются изолированные перфузированные канальцы. В эксперименте большинство исследователей использует эти клеточные линии и модели, наполняя лизосомы цистином с помощью ДЭЦ. Преинкубация изолированных почечных канальцев с ДЭЦ приводит к значительному возрастанию уровня цистина, воспроизводя ситуацию, наблюдаемую при цистинозе [22]. Salmon и Baum [74] перфузировали с ДЭЦ проксимальные канальцы крыс и выявили снижение абсорбции глюкозы и бикарбоната. Было также продемонстрировано снижение уровня АТФ [12]. Однако прямое токсическое действие ДЭЦ также было показано на контрольных фибробластах и ренальных НК-2 клетках [93]. ДЭЦ ингибировал продукцию митохондриальной АТФ и вызывал образование супероксидных радикалов в контрольных клетках. Этого не происходит в цистинозных фибробластах при сопоставимом содержании цистина. Поэтому воз-

никает вопрос о валидности ДЭЦ модели для изучения цистиноза.

Для преодоления этих проблем были сделаны попытки получения культуры клеток непосредственно из цистинозных почек. Первично такие клеточные линии были получены из аутопсийных образцов [63]. К сожалению, культивирование этих клеток было ограничено максимум семью пассажами.

Альтернативно моча человека может быть использована для выделения культуры клеток ренального эпителия, что доказали Sutherland и Vain, используя образцы, полученные от новорожденных [82]. Этот метод был в дальнейшем более детально разработан в 1980-х годах [16, 36]. Racusen et al. выделили отслоившиеся ренальные клетки из мочи больных цистинозом для создания линии из клеток проксимальных канальцев [67, 68]. Эти клетки были эпителиальными, и содержание цистина в них в сто раз превышало норму. Этот способ был применен в сочетании с трансфекцией HPV 16 E6/E7 генов для получения клеточных линий, наиболее пригодных для изучения метаболизма при цистинозе [94]. Преимущество этого метода состоит в том, что управляемая пролиферация позволяет получить однородный клеточный материал в достаточном количестве. Однако из-за высокой степени пролиферации уровень цистина в этих клетках только в 10 раз превышал содержание в клетках контроля, тогда как в почечных клетках у больных цистинозом уровень цистина в 60–350 раз больше нормы [28]. Для ограничения уровня пролиферации была предложена другая модель эпителиальных клеток проксимальных канальцев (PTEC), полученная с помощью вектора, чувствительного к температуре, SV40T *tsA58* (SV40T), который стимулирует пролиферацию только при низкой температуре (33 °C). Эти клетки носят название условно иммортализированных PTEC (ciPTEC) [92]. Когда ciPTEC помещаются в среду с температурой 37 °C, экспрессия антигена SV40T прекращается и пролиферация ингибируется, что позволяет клеткам дифференцироваться. Эта стратегия успешно применяется в комбинации с трансфекцией гена человеческой теломеразной обратной транскриптазы (hTERT) для предотвращения репликативного старения клеток с последующей генерацией ciPTEC из образцов мочи больных цистинозом [48]. Уровень цистина в клетках этой линии в 37 раз выше по сравнению с контролем, что почти воспроизводит ситуацию, наблюдаемую *in vivo* [48].

Патогенез нефропатического цистиноза

Несмотря на то что ген *CTNS* был клонирован более 10 лет назад, патогенез нефропатического цистиноза остается не до конца понятным. В настоящее время нет удовлетворительного объяснения механизма развития клеточной дисфункции и ренального синдрома Фанкони. В последние годы было предложено три основных гипотезы патогенеза цистиноза, включая нарушение метаболизма АТФ, активацию апоптоза и усиление оксидатного стресса в клетках.

Метаболизм АТФ при цистинозе

Первые исследования, выполненные после перфузии и экспозиции ДЭЦ через почечные канальцы,

породили гипотезу о повреждении метаболизма АТФ как причине нарушений реабсорбции при синдроме Фанкони [6, 12, 56, 74]. Было сделано предположение о том, что снижение уровня АТФ, приводящее к ингибированию активности натрий-калиевой-АТФ-азы уменьшает трансцеллюлярный натриевый градиент, что приводит к снижению возможностей натрий-зависимого транспорта. В соответствии с этой гипотезой подобный механизм развития ренального синдрома Фанкони был описан у пациентов с митохондриальными заболеваниями [17, 35, 58, 89].

Кроме того, гистологические исследования клеток почечных канальцев у больных цистинозом обнаружили отек митохондрий, предполагающий дефект клеточного метаболизма с уменьшением окислительного фосфорилирования [38]. В ДЭЦ модели, однако, цистин накапливается в лизосоме, но может легко ее покинуть, в отличие от цистинозных клеток. Более того, ДЭЦ может обладать прямым токсическим воздействием на клетки [93]. Поэтому экспериментальные данные, полученные после насыщения клеток с помощью ДЭЦ, необходимо оценивать критически. Высока вероятность того, что они не соответствуют патофизиологии цистиноза *in vivo*. Тем не менее несколько исследований, проведенных *in vitro*, описали уменьшение уровня АТФ в цистинозных клетках, включая фибробласты, полиморфноядерные лейкоциты и ренальные эпителиальные клетки [46]. Необходимо отметить, что метаболизм АТФ *in vitro* в основном связан с гликолитической активностью клеток, в то время как большая часть АТФ *in vivo* образуется в результате окислительного фосфорилирования, происходящего в митохондриях. Кроме того, при ренальном синдроме Фанкони *in vivo* нарушение тубулярного транспорта может приводить к нехватке субстратов для цитратного цикла, что ограничивает продукцию митохондриальной АТФ. В то же время снижение активности Na-K-АТФ-азы в цистинозных клетках до сих пор не было выявлено. Поэтому гипотеза, объясняющая механизм развития клеточных дисфункций при цистинозе исключительно нарушением метаболизма АТФ, представляется недостаточной.

Апоптоз при цистинозе

В цистинозных фибробластах, в клетках проксимальных канальцев и в ренальных тубулярных клетках, заполненных ДЭЦ, после запуска проапоптотических стимулов (TNF- α) [46] был выявлен высокий уровень апоптоза. Гипотетически аккумуляция цистина повреждает лизосомы, вызывая протечку лизосомальных мембран и проникновение цистина в цитозоль, где он соединяется с проапоптотической протеинкиназой, стимулирующей апоптоз. Деформация клеток в виде «лебединной шеи», которая была описана в проксимальных канальцах у больных цистинозом, возможно, объясняется запуском механизмов апоптоза [10, 51]. Последующее формирование атубулярных гломерул может приводить к прогрессирующей почечной недостаточности. Увеличение экспрессии каспазы-4 в участках почечной ткани с редуцированными проксимальными канальцами поддерживает эту гипотезу [75]. Каспаза-4, представитель семейства цистеиновых протеаз, играет важную роль

в программируемой клеточной смерти. Более того, у больных цистинозом в фибробластах и ренальных эпителиальных клетках выявляется увеличение количества аутофагосом и аутофаговых вакуолей, что позволяет предположить значение нарушений аутофагии в патогенезе цистиноза [76].

Метаболизм глутатиона при цистинозе

В последние годы исследования патогенеза цистиноза были сфокусированы на аномалиях метаболизма глутатиона (ГТ). Этот интерес возник после того, как Rizzo *et al.* выявили у больных цистинозом увеличение выделения с мочой 5-оксопролина [71]. Оксопролинурия не является специфичной только для цистиноза. Она отмечается и при некоторых других генетических заболеваниях, протекающих с нарушением метаболизма глутатиона, таких как дефицит 5-оксопролиназы (MIM 260005) и дефицит глутатион синтетазы (MIM 266130) [60, 70]. ГТ – главный внутриклеточный антиоксидант, защищающий клетки от оксидативного стресса [44]. Теоретически аккумуляция цистина в лизосомах может уменьшать цитозольный пул цистеина, что ограничивает синтез ГТ, т. к. цистеин является субстратом для этого синтеза. Альтернативным объяснением оксопролинурии при цистинозе является дисфункция транспортера SLC5A8, что уменьшает реабсорбцию 5-оксопролина в проксимальных канальцах [55].

Уровень ГТ был измерен на нескольких клеточных моделях с неодинаковыми результатами. Уменьшение уровня ГТ было описано в цистинозных фибробластах и клетках проксимальных канальцев [11, 46]. Другое исследование с использованием фибробластов человека показало отсутствие изменений в базальном уровне ГТ, но выявило снижение ГТ после торможения синтеза АТФ в цистинозных клетках и после экспозиции оксидативными стимулами [52], что позволяет предположить нарушение активности при цистинозе АТФ-зависимого γ -глутамилового цикла. В противоположность этим результатам, недавно одно исследование показало нормальное соотношение окисленного ГТ к восстановленному ГТ в ограниченном количестве цистинозных клеточных линий, что предполагает отсутствие изменений клеточного редокс-потенциала [90]. Уровень ГТ нормален как в цистинозных HPV 16 E6/E7 проксимальных канальцевых клетках [94], так и в цистинозных siPTEC линиях [75]. ГТ-уровень в siPTEC сравним с уровнем, определяемым в здоровых тубулярных клетках (~5 mM) [70]. Однако в этих клеточных моделях была увеличена концентрация дисульфида глутатиона, что свидетельствовало об увеличении оксидатного статуса. Повреждение редокс-статуса в цистинозных siPTEC не влияло на оксидацию белков и жирных кислот, демонстрируя, что, по крайней мере *in vitro*, тотальная восстановительная способность клеток была достаточной для защиты от оксидативного повреждения. Более высокая метаболическая активность *in vivo* и почти исключительная генерация АТФ в митохондриях посредством окислительного фосфорилирования, может приводить к более высокому образованию активных радикалов кислорода. Поэтому клетки больных цистинозом могут быть на самом деле более уязвимы, чем это выявляется *in vitro*.

Комбинированные клеточные модели цистиноза

Нарушение клеточного метаболизма ГТ может провоцировать апоптоз и быть причиной оксидативного повреждения митохондрий; с другой стороны, митохондриальная патология делает клетки предрасположенными к апоптозу и может уменьшать продукцию АТФ с дальнейшим нарушением синтеза ГТ. Поэтому различные гипотезы, сформулированные ранее, могут представлять различные грани единого каскада событий, который возникает от перегрузки лизосом цистином и приводит к нарушению функции клеток и снижению проксимальной канальцевой реабсорбции. Нестыковка данных, полученных в ряде исследований, может отражать различия в условиях экспериментов, стадиях клеточных дисфункций и неоднородность метаболических процессов клеток, используемых для изучения патогенеза заболевания.

Например, недавние работы показали, что внутриклеточный уровень цистеина не всегда снижается в цистинозных клетках, несмотря на невозможность выхода цистина из лизосом [5]. Соответственно, маловероятно, что нарушение метаболизма ГТ первично вызывается недостатком субстрата для γ -глутаминового цикла. Другие факторы могут быть причиной нарушения метаболизма ГТ. Например, активность ГТ-транспортёров OAT1/3 и MRP2/4 может модулировать апоптозный каскад [24], в то время как клетки проксимальных канальцев могут усваивать ГТ с базолатеральной стороны через натрий-зависимый SDCT-2 и OAT1/3. Более того, ГТ фильтруется через гломерулы и деградирует в цистеинил-глицин с помощью γ -глутамил-трансферазы щеточной каймы эпителия проксимальных канальцев. Цистеинил-глицин может реабсорбироваться с помощью апикального транспортера PEPT2 и восстанавливать интрацеллюлярный пул цистеина [25]. В дополнение к этой комплексной модели необходимо отметить, что уровень цистеина и уровень экспрессии CTNS м-РНК и цистинозина взаимосвязаны [5]. Введение в клетку малой интерферирующей РНК, понижающей экспрессию CTNS, приводит к увеличению содержания цистина и цистеина, в то время как изменение цистин/цистин редокс-статуса модифицирует уровень CTNS м-РНК.

Эти данные демонстрируют основную роль гена CTNS в регуляции метаболизма внутриклеточных тиолов, причем его экспрессия, в свою очередь, также активно регулируется. Лечение цистеамином позволяет уменьшить содержание внутриклеточного цистина, но также увеличивает пул внутриклеточного ГТ и в контроле, и в цистинозных *ciPTES* и, таким образом, увеличивает способность клеток противостоять оксидантному стрессу [48]. Данный эффект может быть полезен и при других хронических заболеваниях почек, при которых одним из механизмов прогрессии является усиление оксидантного стресса [61, 77, 80, 88].

В целом эти данные проливают свет на комплекс метаболических взаимодействий, возникающих *in vivo*, особенно в реабсорбирующем эпителии, где транспорт растворов зависит от клеточной энергии и оксидативного статуса, и при этом одновременно в процессе реабсорбции сберегаются ценные субстраты, которые

позволяют клеткам генерировать энергию и управлять редокс-статусом. Наиболее вероятно, что полная последовательность событий, приводящих к развитию синдрома Фанкони при нефропатическом цистинозе, не может быть выяснена при использовании только модели *in vitro* и в дальнейшем потребуются более широкое изучение модели *in vivo*, такой как *ctns*^{-/-} нокаут мышей, более точно воспроизводящей заболевание у человека.

Перспективы исследований в будущем

Хотя внутриклеточная аккумуляция цистина является отличительным признаком цистиноза, последние научные данные позволяют предположить, что только одного этого механизма явно недостаточно для объяснения всех наблюдаемых при этой болезни клеточных альтераций и дисфункций. В пользу этого предположения свидетельствует персистенция ренального синдрома Фанкони у пациентов после деpleции цистина, полученной с помощью терапии цистеамином. Необходимо принимать во внимание и отсутствие полного синдрома Фанкони у *ctns*^{-/-} нокаут мышей, несмотря на высокий уровень цистина в канальцевом эпителии [57]. Новые данные указывают на то, что лизосомы являются не только «перерабатывающими заводами», завершающими эндоцитозный цикл. Это динамичные органеллы, участвующие во многих физиологических процессах. Недавно выяснено, что лизосомы активно задействованы в процессе передачи сигнала в клетке, ремонте клеточной мембраны, фагоцитозе, ремоделировании тканей, гомеостазе холестерина, аутофагии, апоптозе и клеточном некрозе [50, 73]. Лизосомы постоянно взаимодействуют с другими органеллами, что позволяет предполагать их центральную роль при многих клеточных процессах. Открыты два механизма этого взаимодействия: с полным слиянием везикулы с мембраной и так называемый механизм динамического слияния «поцеловал и убежал» (английский термин *kiss-and-run*). Последний способ характеризуется кратковременным открытием пор слияния между пузырьком и мембраной, которое ведет к высвобождению содержимого пузырька, без включения всего пузырька в мембрану [73]. Результаты последних экспериментов поддерживают гипотезу о том, что при цистинозе повреждается не только трансмембранный транспорт цистина, но и многие другие функции лизосом. Накопление аутофагосом в цистинозных клетках, продемонстрированное Sansanwal et al. [76], может свидетельствовать о повреждении процесса слияния аутофагосомы с лизосомой. Так как аутофагия является защитным процессом, это нарушение может приводить клетку к гибели [65]. Таким образом, детальное изучение патологии клеточного метаболизма, не ограничивающееся только накоплением цистина, будет являться одним из перспективных направлений будущих исследований при цистинозе. Углубление знаний о биогенесе лизосом и интрацеллюлярном транспорте субстратов, идентификация протеинов, взаимодействующих с лизосомой и с изоформами цистинозина, будет иметь большое значение не только для понимания патогенеза цистиноза, но также для расширения знаний о функции лизосом в целом.

Литература

1. *Abderbalden E.* Familiäre cystindiathese // *Hopp. Seylers Zeitschr. Physiol. Chemie.* 1903. Vol. 38. P. 557–561.
2. *Alcantara-Ortigoza MA, Belmont-Martínez L, Vela-Amieva M, González-Del Angel A.* Analysis of the CTNS gene in nephropathic cystinosis Mexican patients: report of four novel mutations and identification of a false positive 57-kb deletion genotype with LDM-2/exon 4 multiplex PCR assay // *Genet. Test.* 2008. Vol. 12 (3). P. 409–414.
3. *Anikster Y, Sbotelersuk V, Gabl WA.* CTNS mutations in patients with cystinosis // *Hum. Mutat.* 1999. Vol. 14 (6). P. 454–458.
4. *Attard M, Jean G, Forestier L et al.* Severity of phenotype in cystinosis varies with mutations in the CTNS gene: predicted effect on the model of cystinosis // *Hum. Mol. Genet.* 1999. Vol. 8 (13). P. 2507–2514.
5. *Bellomo F, Corallini S, Pastore A et al.* Modulation of CTNS gene expression by intracellular thiols // *Free Radic. Biol. Med.* 2010. Vol. 48 (7). P. 865–872.
6. *Benmun A, Basban N, Potashnik R, Cobenluria R, Moran A.* Cystine dimethyl ester reduces the forces driving sodium-dependent transport in LLC-PK₁ cells // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 1992. Vol. 263. C516–C520.
7. *Bens M, Vandewalle A.* Cell models for studying renal physiology // *Pflugers Arch.* 2008. Vol. 457 (1). P. 1–15.
8. *Cbabli A, Aupetit J, Raehm M et al.* Measurement of cystine in granulocytes using liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Clin. Biochem.* 2007. Vol. 40 (9–10). P. 692–698.
9. *Cherqui S, Sevin C, Hamard G et al.* Intralysosomal cystine accumulation in mice lacking cystinosis, the protein defective in cystinosis // *Mol. Cell. Biol.* 2002. Vol. 22 (21). P. 7622–7632.
10. *Chevalier RL, Forbes MS.* Generation and evolution of atubular glomeruli in the progression of renal disorders // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008. Vol. 19 (2). P. 197–206.
11. *Chol M, Nevo N, Cherqui S, Antignac C, Rustin P.* Glutathione precursors replenish decreased glutathione pool in cystinotic cell lines // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004. Vol. 324 (1). P. 231–235.
12. *Coor C, Salmon RF, Quigley R, Marver D, Baum M.* Role of adenosine triphosphate (ATP) and NaK ATPase in the inhibition of proximal tubule transport with intracellular cystine loading // *J. Clin. Invest.* 1991. Vol. 87 (3). P. 955–961.
13. *Danpure CJ, Jennings PR, Fyfe DA.* Further studies on the effect of chloroquine on the uptake, metabolism and intracellular translocation of [³⁵S]cystine in cystinotic fibroblasts // *Biochim. Biophys. Acta.* 1986. Vol. 885 (3). P. 256–265.
14. *De Toni G.* Remarks on the relations between renal rickets (renal dwarfism) and renal diabetes // *Acta Paediatrica.* 1933. Vol. 16. P. 479–484.
15. *Debre R, Marie J, Cleret J, Messimy R.* Rachitisme tardif coexistent avec une nephrite chronique et une glycosurie // *Arch. Med. Enfants.* 1934. Vol. 37. P. 597–606.
16. *Detrisac CJ, Mayfield RK, Colwell JA et al.* *In vitro* culture of cells exfoliated in the urine by patients with diabetes mellitus // *J. Clin. Invest.* 1983. Vol. 71 (1). P. 170–173.
17. *Diomed-Camassei F, Di Giandomenico S, Santorelli FM et al.* COQ2 nephropathy: a newly described inherited mitochondriopathy with primary renal involvement // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. Vol. 18 (10). P. 2773–2780.
18. *Evers R, Zaman GJ, van Deemter L et al.* Basolateral localization and export activity of the human multidrug resistance-associated protein in polarized pig kidney cells // *J. Clin. Invest.* 1996. № 1. Vol. 97 (5). P. 1211–1218.
19. *Fanconi G.* Die nicht diabetischen glykosurien und hyperglykämies am kundes // *Jahrbuch Kinderheilkunde.* 1931. Vol. 133. P. 257–300.
20. *Fernández E, Torrents D, Chibllaryn J, Martín Del Río R, Zorzano A, Palacín M.* Basolateral LAT-2 has a major role in the transepithelial flux of L-cystine in the renal proximal tubule cell line OK // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003. Vol. 14 (4). P. 837–847.
21. *Fernandez-Valero E M, Ballart A, Iturriaga C et al.* Identification of 25 new mutations in 40 unrelated Spanish Niemann-Pick type C patients: genotype-phenotype correlations // *Clin. Genet.* 2005. Vol. 68 (3). P. 245–254.
22. *Foreman JW, Bowring MA, Lee J, States B, Segal S.* Effect of cystine dimethylester on renal solute handling and isolated renal tubule transport in the rat: a new model of the Fanconi syndrome // *Metabolism.* 1987. Vol. 36 (12). P. 1185–1191.
23. *Forestier L, Jean G, Attard M et al.* Molecular characterization of CTNS deletions in nephropathic cystinosis: development of a PCR-based detection assay // *Am. J. Hum. Genet.* 1999. Vol. 65 (2). P. 353–359.
24. *Franco R, Cidlowski JA.* SLCO/OATP-like transport of glutathione in FasL-induced apoptosis: glutathione efflux is coupled to an organic anion exchange and is necessary for the progression of the execution phase of apoptosis // *J. Biol. Chem.* 2006. Vol. 281 (40). P. 29542–29557.
25. *Frey LM, Rubio-Aliaga I, Siewert A et al.* Profiling at mRNA, protein, and metabolite levels reveals alterations in renal amino acid handling and glutathione metabolism in kidney tissue of Pept2^{-/-} mice // *Physiol. Genomics.* 2007. Vol. 12. 28 (3). P. 301–310.
26. *Gabl WA, Balog JZ, Kleta R.* Nephropathic cystinosis in adults: natural history and effects of oral cysteamine therapy // *Ann. Intern. Med.* 2007. Vol. 21. 147 (4). P. 242–250.
27. *Gabl WA, Basban N, Tietze F, Bernardini I, Schulman JD.* Cystine transport is defective in isolated leukocyte lysosomes from patients with cystinosis // *Science.* 1982. Vol. 24. 217 (4566). P. 1263–1265.
28. *Gabl WA, Thoene JG, Schneider JA.* Cystinosis: a disorder of lysosomal membrane transport // *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, edited by Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, and Valle D. New York: McGraw-Hill, 2001. P. 5085–6108.
29. *Gabl WA, Tietze F, Basban N et al.* Defective cystine exodus from isolated lysosome-rich fractions of cystinotic leukocytes // *J. Biol. Chem.* 1982. Vol. 25. 257 (16). P. 9570–9575.
30. *Gabl WA, Tietze F, Butler JD, Schulman JD.* Cysteamine depletes cystinotic leukocyte granular fractions of cystine by the mechanism of disulphide interchange // *Biochem. J.* 1985. Vol. 15. 228 (3). P. 545–550.
31. *Gibson A, Futter CE, Maxwell S et al.* Sorting mechanisms regulating membrane protein traffic in the apical transcytotic pathway of polarized MDCK cells // *J. Cell. Biol.* 1998. Vol. 5. 143 (1). P. 81–94.
32. *Goldman H, Scriver CR, Aaron K, Phinsky L.* Use of dithiothreitol to correct cystine storage in cultured cystinotic fibroblasts // *Lancet.* 1970. Vol. 1 (7651). P. 811–812.
33. *Goldman R, Kaplan A.* Rupture of rat liver lysosomes mediated by L-amino acid esters // *Biochim. Biophys. Acta.* 1973. Vol. 318 (2). P. 205–216.
34. *Graaf-Hess A, Trijbels F, Blom H.* New method for determining cystine in leukocytes and fibroblasts // *Clin. Chem.* 1999. Vol. 45 (12). P. 2224–2228.
35. *Hall AM, Unwin RJ.* The not so «mighty chondrion»: emergence of renal diseases due to mitochondrial dysfunction // *Nephron Physiol.* 2007. Vol. 105 (1). P. 1–10.
36. *Hintz DS, Sens MA, Jenkins MQ, Sens DA.* Tissue culture of epithelial cells from urine. I. Serum-free growth of cells from newborn infants // *Pediatr. Pathol.* 1984. Vol. 2 (2). P. 153–163.
37. *Hippert C, Dubois G, Morin C et al.* Gene transfer may be preventive but not curative for a lysosomal transport disorder // *Mol. Ther.* 2008. Vol. 16 (8). P. 1372–1381.
38. *Jackson JD, Smith F, Litman NN, Yuile CL, Latta H.* The Fanconi syndrome with cystinosis. Electron microscopy of renal biopsy specimens from five patients // *Am. J. Med.* 1962. Vol. 33. P. 893–910.
39. *Jonas AJ, Smith ML, Allison WS et al.* Proton-translocating ATPase and lysosomal cystine transport // *J. Biol. Chem.* 1983. Vol. 10. 258 (19). P. 11727–11730.
40. *Jonas AJ, Smith ML, Schneider JA.* ATP-dependent lysosomal cystine efflux is defective in cystinosis // *J. Biol. Chem.* 1982. Vol. 25. 257 (22). P. 13185–13188.
41. *Kalatzis V, Cherqui S, Antignac C, Gasnier B.* Cystinosis, the protein defective in cystinosis, is a H(+) driven lysosomal cystine transporter // *EMBO J.* 2001. Vol. 20 (21). P. 5940–5949.
42. *Kalatzis V, Nevo N, Cherqui S, Gasnier B, Antignac C.* Molecular pathogenesis of cystinosis: effect of CTNS mutations on the transport activity and subcellular localization of cystinosis // *Hum. Mol. Genet.* 2004. Vol. 13 (13). P. 1361–1371.
43. *Kalatzis V, Serratrice N, Hippert C et al.* The ocular anomalies in a cystinosis animal model mimic disease pathogenesis // *Pediatr. Res.* 2007. Vol. 62 (2). P. 156–162.
44. *Kirlin WG, Cai J, Thompson SA, Diaz D, Kavanagh TJ, Jones DP.* Glutathione redox potential in response to differentiation and enzyme inducers // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. Vol. 27 (11–12). P. 1208–1218.
45. *Kroll WA, Schneider JA.* Decrease in free cystine content of cultured cystinotic fibroblasts by ascorbic acid // *Science.* 1974. Vol. 186 (4168). P. 1040–1042.
46. *Laube GF, Shab V, Stewart VC et al.* Glutathione depletion and increased apoptosis rate in human cystinotic proximal tubular cells // *Pediatr. Nephrol.* 2006. Vol. 21 (4). P. 503–509.

47. *Levtchenko EN, de Graaf-Hess A, Blom HJ, Momms LA.* Negligible urinary cysteamine loss in cystinosis patients with Fanconi syndrome // *Clin. Nephrol.* 2002. Vol. 57 (5). P. 349–351.
48. *Levtchenko EN, Wilmer MJ, Kluijtmans LA, Momms LA, Van der Heuvel LP.* Cysteamine treatment in cystinotic proximal tubular cells increases intracellular glutathione without restoring decreased ATP levels (Abstract) // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009. Vol. 20. P. 283A.
49. *Lignac G.* Ueber Störung des Cystinstoffwechsels bei Kindern // *Deut. Arch. Klin. Med.* 1924. Vol. 145. P. 139–150.
50. *Luzio J, Pryor PR, Bright NA.* Lysosomes: fusion and function // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2007. Vol. 8 (8). P. 622–632.
51. *Maboney CP, Striker GE.* Early development of the renal lesions in infantile cystinosis // *Pediatr. Nephrol.* 2000. Vol. 15 (1–2). P. 50–56.
52. *Mannucci L, Pastore A, Rizzo C et al.* Impaired activity of the gamma-glutamyl cycle in nephropathic cystinosis fibroblasts // *Pediatr. Res.* 2006. Vol. 59 (2). P. 332–335.
53. *Markovich D, Verri T, Sorribas V et al.* Regulation of opossum kidney (OK) cell Na/Pi cotransport by Pi deprivation involves mRNA stability // *Pflugers Arch.* 1995. Vol. 430 (4). P. 459–463.
54. *Medlar A, Kleta R.* Cystinosis and mickey mouse // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. Vol. 25 (4). P. 1032–1033.
55. *Miyayuchi S, Gopal E, Babu E et al.* Sodium-coupled electrogenic transport of pyroglutamate (5-oxoproline) via SLC5A8, a monocarboxylate transporter // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. Vol. 1798 (6). P. 1164–1171.
56. *Moran A, Ben-Nun A, Potasnik R, Basban N.* Renal cells in culture as a model for cystinosis // *Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 1990. Vol. 1 (1–4). P. 357–372.
57. *Nevo N, Cbol M, Baillex A et al.* Renal phenotype of the cystinosis mouse model is dependent upon genetic background // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010. Vol. 25 (4). P. 1059–1066.
58. *Niaudet P.* Mitochondrial disorders and the kidney // *Arch. Dis. Child.* 1998. Vol. 78 (4). P. 387–390.
59. *Nilius B.* Transient receptor potential (TRP) cation channels: rewarding unique proteins // *Bull. Mem. Acad. R. Med. Belg.* 2007. Vol. 162 (3–4). P. 244–253.
60. *Njellsson R, Ristoff E, Carlsson K, Winkler A, Larsson A, Norgren S.* Genotype, enzyme activity, glutathione level, and clinical phenotype in patients with glutathione synthetase deficiency // *Hum. Genet.* 2005. Vol. 116 (5). P. 384–389.
61. *Okamura DM, Himmelfarb J.* Tipping the redox balance of oxidative stress in fibrogenic pathways in chronic kidney disease // *Pediatr. Nephrol.* 2009. Vol. 24 (12). P. 2309–2319.
62. *Patrick AD, Lake BD.* Cystinosis: electron microscopic evidence of lysosomal storage of cystine in lymph node // *J. Clin. Pathol.* 1968. Vol. 21 (5). P. 571–575.
63. *Pellett OL, Smith ML, Thoene JG et al.* Renal cell culture using autopsy material from children with cystinosis // *In vitro.* 1984. Vol. 20 (1). P. 53–58.
64. *Peng J, Li YJ.* The vanilloid receptor TRPV1: role in cardiovascular and gastrointestinal protection // *Eur. J. Pharmacol.* 2010. Vol. 627 (1–3). P. 1–7.
65. *Periyasamy-Thandavan S, Jiang M, Schoenlein P, Dong Z.* Autophagy: molecular machinery, regulation, and implications for renal pathophysiology // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2009. Vol. 297 (2). P. 244–256.
66. *Pisoni RL, Thoene JG, Lemons RM, Christensen HN.* Important differences in cationic amino acid transport by lysosomal system c and system y+ of the human fibroblast // *J. Biol. Chem.* 1987. Vol. 262 (31). P. 15011–15018.
67. *Racusen LC, Fivush BA, Andersson H, Gabl WA.* Culture of renal tubular cells from the urine of patients with nephropathic cystinosis // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1991. Vol. 1 (8). P. 1028–1033.
68. *Racusen LC, Wilson PD, Hartz PA et al.* Renal proximal tubular epithelium from patients with nephropathic cystinosis: immortalized cell lines as in vitro model systems // *Kidney Int.* 1995. Vol. 48 (2). P. 536–543.
69. *Reeves JP.* Accumulation of amino acids by lysosomes incubated with amino acid methyl esters // *J. Biol. Chem.* 1979. Vol. 254 (18). P. 8914–8921.
70. *Ristoff E, Larsson A.* Inborn errors in the metabolism of glutathione // *Orphanet J. Rare Dis.* 2007. Vol. 2. P. 16.
71. *Rizzo C, Ribes A, Pastore A et al.* Pyroglutamic aciduria and nephropathic cystinosis // *J. Inher. Metab. Dis.* 1999. Vol. 22 (3). P. 224–226.
72. *Ryan MJ, Johnson G, Kirk J et al.* HK-2: an immortalized proximal tubule epithelial cell line from normal adult human kidney // *Kidney Int.* 1994. Vol. 45 (1). P. 48–57.
73. *Saftig P, Klumperman J.* Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2009. Vol. 10 (9). P. 623–635.
74. *Salmon RF, Baum M.* Intracellular cystine loading inhibits transport in the rabbit proximal convoluted tubule // *J. Clin. Invest.* 1990. Vol. 85 (2). P. 340–344.
75. *Sansanwal P, Kambham N, Sarwal MM.* Caspase-4 may play a role in loss of proximal tubules and renal injury in nephropathic cystinosis // *Pediatr. Nephrol.* 2010. Vol. 25 (1). P. 105–109.
76. *Sansanwal P, Yen B, Gabl WA et al.* Mitochondrial autophagy promotes cellular injury in nephropathic cystinosis // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010. Vol. 21 (2). P. 272–283.
77. *Santangelo F, Witko-Sarsat V, Drüeke T, Descamps-Latscha B.* Restoring glutathione as a therapeutic strategy in chronic kidney disease // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2004. Vol. 19 (8). P. 1951–1955.
78. *Schneider JA, Bradley K, Seegmiller JE.* Increased cystine in leukocytes from individuals homozygous and heterozygous for cystinosis // *Science.* 1967. Vol. 157 (794). P. 1321–1322.
79. *Schneider JA, Rosenbloom FM, Bradley KH, Seegmiller JE.* Increased free-cystine content of fibroblasts cultured from patients with cystinosis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1967. Vol. 29 (4). P. 527–531.
80. *Shah SV, Baliga R, Rajapurkar M, Fonseca VA.* Oxidants in chronic kidney disease // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. Vol. 18 (1). P. 16–28.
81. *Steinberg R, Tietze F, Gabl WA et al.* Cystine accumulation and clearance by normal and cystinotic leukocytes exposed to cystine dimethyl ester // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1982. Vol. 79 (14). P. 4446–4450.
82. *Sutherland GR, Bain AD.* Culture of cells from the urine of newborn children // *Nature.* 1972. Vol. 239 (5369). P. 231.
83. *Syres K, Harrison F, Tadlock M et al.* Successful treatment of the murine model of cystinosis using bone marrow cell transplantation // *Blood.* 2009. Vol. 114 (12). P. 2542–2552.
84. *Taranta A, Wilmer MJ, van den Heuvel LP et al.* Analysis of CTNS gene transcripts in nephropathic cystinosis // *Pediatr. Nephrol.* 2010. Vol. 25 (7). P. 1263–1267.
85. *The Cystinosis Collaborative Research Group.* Linkage of the gene for cystinosis to markers on the short arm of chromosome 17 // *Nat. Genet.* 1995. Vol. 10. P. 246–248.
86. *Thoene JG, Lemons R.* Modulation of the intracellular cystine content of cystinotic fibroblasts by extracellular albumin // *Pediatr. Res.* 1980. Vol. 14 (6). P. 785–787.
87. *Thoene JG, Osbima RG, Crauhall JC et al.* Cystinosis. Intracellular cystine depletion by aminoethiols *in vitro* and *in vivo* // *J. Clin. Invest.* 1976. Vol. 58 (1). P. 180–189.
88. *Touchman JW, Anikster Y, Dietrich NL et al.* The genomic region encompassing the nephropathic cystinosis gene (CTNS): complete sequencing of a 200-kb segment and discovery of a novel gene within the common cystinosis-causing deletion // *Genome Res.* 2000. Vol. 10 (2). P. 165–173.
89. *Town M, Jean G, Cherqui S et al.* A novel gene encoding an integral membrane protein is mutated in nephropathic cystinosis // *Nat. Genet.* 1998. Vol. 18 (4). P. 319–324.
90. *Van Bieveliet JP, Bruinvis L, Ketting D et al.* Hereditary mitochondrial myopathy with lactic acidemia, a De Toni-Fanconi-Debré syndrome, and a defective respiratory chain in voluntary striated muscles // *Pediatr. Res.* 1977. Vol. 11 (10 Pt 2). P. 1088–1093.
91. *Vitvitsky V, Witche M, Banerjee R, Thoene J.* The redox status of cystinotic fibroblasts // *Mol. Genet. Metab.* 2010. Vol. 99 (4). P. 384–388.
92. *Wamelinck MM, Struys EA, Jansen EE et al.* Sedoheptulokinase deficiency due to a 57-kb deletion in cystinosis patients causes urinary accumulation of sedoheptulose: elucidation of the CARLK gene // *Hum. Mutat.* 2008. Vol. 29 (4). P. 532–536.
93. *Wilmer MJ, Saleem MA, Masereeuw R et al.* Novel conditionally immortalized human proximal tubule cell line expressing functional influx and efflux transporters // *Cell. Tissue Res.* 2010. Vol. 339 (2). P. 449–457.
94. *Wilmer MJ, Willems PH, Verkaar S et al.* Cystine dimethylester model of cystinosis: still reliable? // *Pediatr. Res.* 2007. Vol. 62 (2). P. 151–155.
95. *Wilmer MJ, de Graaf-Hess A, Blom HJ et al.* Elevated oxidized glutathione in cystinotic proximal tubular epithelial cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. Vol. 337 (2). P. 610–614.

Дата получения статьи: 29.10.11
Дата принятия к печати: 18.01.12