

ISSN 1814-6023 (Print)

ISSN 2524-2350 (Online)

УДК 616.37-018.1-001:[616.37-002-02:613.81]

<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-1-108-116>

Поступила в редакцию 12.06.2018

Received 12.06.2018

**Л. А. Можейко**

*Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Республика Беларусь*

## **МЕХАНИЗМЫ ПОВРЕЖДЕНИЯ АЦИНАРНЫХ КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ОСТРОМ АЛКОГОЛЬНОМ ПАНКРЕАТИТЕ**

**Аннотация.** В обзоре представлен анализ современных сведений об основных механизмах токсичного воздействия алкоголя и его метаболитов на ацинарные клетки поджелудочной железы при остром панкреатите. Показано, что механизмы клеточного повреждения многокомпонентны и тесно взаимосвязаны регуляторными факторами молекулярного уровня. На ранней стадии заболевания они приводят к следующим структурно-функциональным изменениям ацинарных клеток, способствующим преждевременной внутриклеточной активации трипсиногена и аутоагрессии: устойчивому подъему цитозольного  $Ca^{2+}$  и избытку митохондриального  $Ca^{2+}$ , дестабилизации лизосом и зимогенных гранул, нарушению аутофагии, деполяризации митохондрий, снижению выработки АТФ и некрозу.

**Ключевые слова:** поджелудочная железа, ацинарные клетки, острый панкреатит, алкоголь

**Для цитирования:** Можейко, Л. А. Механизмы повреждения ацинарных клеток поджелудочной железы при остром алкогольном панкреатите / Л. А. Можейко // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2019. – Т. 16, № 1. – С. 108–116. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-1-108-116>

**L. A. Mozheiko**

*Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus*

## **MECHANISMS OF DAMAGE OF ACINAR PANCREATIC CELLS IN ACUTE ALCOHOL PANCREATITIS**

**Abstract.** The review analyzes the current data on the main mechanisms of toxic effects of alcohol and its metabolites on pancreatic acinar cells in acute pancreatitis. It is shown that the mechanisms of cellular damage are multicomponent and closely linked by the regulatory factors of the molecular level. At the early stage of the disease, they lead to the following structural and functional changes in acinar cells that promote the premature intracellular trypsinogen activation and autoaggression: sustained rise of cytosolic  $Ca^{2+}$  and excess of mitochondrial matrix  $Ca^{2+}$ ; destabilization due to lysosomes and zymogen granules; defective autophagy; mitochondrial depolarization; decreased ATP production and necrosis.

**Keywords:** pancreas, acinar cells, acute pancreatitis, alcohol

**For citation:** Mozheiko L. A. Mechanisms of damage acinar pancreatic cells in acute alcohol pancreatitis. *Vestsi Natsyonal'noi akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2019, vol. 16, no. 1, pp. 108–116 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2019-16-1-108-116>

Согласно мировым статистическим данным, алкоголь является одним из лидирующих факторов риска при острых панкреатитах (ОП) [1, 2]. Инициированию заболевания могут способствовать некоторые триггеры и кофакторы внешней и внутренней среды [3]. Изучение заболеваемости панкреатитом, развившемся в результате чрезмерного употребления алкоголя, показало, что доля алкогольного панкреатита среди ОП колеблется в разных странах от 13 % (в Италии) до 60 % (в Венгрии), составляя в большинстве развитых стран около 35 % [4]. Для успешного лечения ОП важно понимание его патофизиологических механизмов. В последнее десятилетие господствующая гипотеза патогенеза заболевания (гипотеза преждевременной активации пищеварительных ферментов) дополнена новыми экспериментальными данными, позволяющими обсудить участие и других факторов в повреждении ацинарных клеток, таких как эндоплазматический стресс, нарушение аутофагии, дисфункция лизосом, митохондрий и других клеточных структур [5, 6]. В качестве общего механизма этих изменений рассматривается нарушение гомеостаза  $Ca^{2+}$ , вызванное токсическими агентами метаболизма алкоголя.

Цель работы – проанализировать современные литературные сведения о механизмах повреждения ацинарных клеток поджелудочной железы на ранней стадии острого алкогольного панкреатита.

Как известно, этанол оказывает на поджелудочную железу прямой токсический эффект, повреждая в первую очередь ацинарные клетки. Панкреатические ацинарные клетки метаболизируют этанол оксидативным и неоксидативным путем. При этом именно генерируемые метаболиты (ацетальдегид, этиловые эфиры жирных кислот) вызывают изменения ацинарных клеток, способствующие преждевременной активации трипсиногена и аутодигестивному повреждению поджелудочной железы. Они характеризуются увеличением содержания пищеварительных и лизосомальных ферментов, дестабилизацией лизосом и зимогенных гранул, нарушением аутофагии, устойчивым увеличением концентрации цитозольного и митохондриального  $Ca^{2+}$ , деполаризацией митохондрий и снижением АТФ, увеличением активности транскрипционных факторов (NF- $\kappa$ B и AP-1) [7, 8]. Предполагается наличие нескольких сигнальных путей и молекул воздействия токсических агентов на ацинарные клетки.

Механизмы преждевременной активации трипсиногена, вызывающей в последующем аутопереваривание ткани поджелудочной железы и развитие панкреатита, полностью не выяснены. Однако благодаря фундаментальным коллективным исследованиям ученых ряда ведущих научных учреждений различных стран (Британии, США, Японии, России, Украины и др.) достигнуты существенные успехи в понимании этого патофизиологического процесса [6, 7].

В течение ряда лет основным механизмом образования и аккумуляции активного трипсина при панкреатите считается увеличенная конвертация его из трипсиногена с помощью катепсина В [9, 10]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* установлено, что катепсин В играет доминирующую роль в активации трипсиногена [9]. У мышей удаление гена, кодирующего катепсин В, в 50 % случаев предотвращает активацию трипсиногена и уменьшает выраженность ОП. Одна из предложенных гипотез, так называемая *colocalization hypothesis*, постулирует, что совместная локализация катепсина В и трипсиногена при нарушении сегрегации катепсина В приводит к перераспределению фермента в зимоген-содержащие компартменты ацинарных клеток, что предполагает активацию трипсина и инициацию ОП.

В нормальных условиях пищеварительные ферменты и лизосомальные гидролазы, формирующиеся в ацинарных клетках в комплексе Гольджи, далее транспортируются разными путями. Зимогенные гранулы, содержащие пищеварительные проферменты, заполняют свои компартменты в апикальной части цитоплазмы ацинарной клетки, а лизосомы с гидролазами – соответственно свои. Допускается, что на ранних стадиях развития острого экспериментального панкреатита возможно нарушение сортировки этих веществ и их транспортных путей, которое приводит к тому, что пищеварительные проферменты, попадая во внутриклеточные компартменты, содержащие лизосомные гидролазы, впоследствии сливаются с ними, образуя цитоплазматические вакуоли. На моделях экспериментального панкреатита у крыс показано, что этанол увеличивает способность панкреатических ацинарных клеток к синтезу пищеварительных и лизосомальных ферментов. Отмечается увеличение уровня менеджера РНК (мРНК) для липазы, трипсиногена, химотрипсиногена и лизосомального фермента – катепсина В [10, 11]. Это увеличивает потенциальную возможность их контакта и слияния. Есть основания считать, что в случаях острого экспериментального панкреатита, сопровождающихся блоком секреции зимогенов в просвет ацинусов, пищеварительные ферменты и лизосомальные гидролазы могут мигрировать из апикальной в базолатеральную часть ацинарной клетки и там сливаться. Часто наблюдаются оба пути образования таких цитоплазматических вакуолей. Слияние зимогенных гранул и лизосомальных гидролаз может привести к преждевременной активации пищеварительных проферментов, прежде всего трипсиногена [9]. Установлено, что активация пищеварительных ферментов внутри ацинарных клеток происходит быстро (по экспериментальным данным, в пределах 15 мин).

В последние годы предложена другая, альтернативная, гипотеза механизма накопления цитоплазматических вакуолей и активации трипсина [12, 13]. Авторы этой гипотезы (разработка которой продолжается и в настоящее время) не обнаружили увеличения катепсина В в зимоген-

содержащей фракции при экспериментальном панкреатите и считают активацию трипсина следствием глубокого нарушения аутофагии. Аутофагия, главным образом макрофагия, – ступенчатый биологический процесс в виде комплексного физиологического ответа, включающего лизосомопосредованный процессинг и разрушение длительно живущих белков и органелл с дальнейшим использованием их составляющих. На первом его этапе формируются аутофагосомы – вакуоли, содержащие субстанции, секвестрированные из цитоплазмы и подлежащие деградации. Далее они сливаются с эндосомами с образованием амфисом, а затем – аутофагических лизосом, содержащих лизосомальные гидролазы, важнейшими из которых являются гидролазы семейства цистеиновых протеаз – катепсинов, таких как катепсин В и катепсин L, расщепляющих поглощенные субстанции [10, 12, 14]. Формирование цитоплазматических вакуолей в ацинарных клетках поджелудочной железы (заметный патологический признак ОП) отмечалось как в экспериментальных, так и в клинических работах и ранее [14, 15, 16]. Однако детально роль аутофагии в их образовании и индуцировании заболевания стала изучаться только в последнее десятилетие. В настоящее время можно констатировать, что взгляды исследователей на этот процесс неоднозначны.

Одни убеждены, что внутриклеточные компоненты, в том числе гранулы зимогенов, попадают в аутофагосомы при ОП в результате чрезмерной аутофагии. При слиянии с лизосомами трипсиноген гидролизуется в активный трипсин, что является стартовым механизмом развития заболевания [17]. Это заключение было основано на наблюдаемом увеличении уровня LC3-II и количества LC3-позитивных вакуолей, которое демонстрируется в исследованиях при моделируемом панкреатите.

LC3 – микротубулярный белок, который в процессе аутофагии конвертируется из цитозольного LC3-1 в LC3-2, встраивается в мембраны аутофагосом и считается их маркером. Однако существует мнение, что использованные параметры могут указывать не только на активацию аутофагического пути, но и на его нарушения [18].

Рассматривается два возможных механизма нарушения аутофагического пути при ОП. Один из них – это блокада слияния аутофагосом и поздних эндосом-лизосом, как это наблюдается при лизосомных болезнях [19]. Блокада может быть связана с нарушением формирования мембраны лизосом. Главные компоненты лизосомальной мембраны и главный регулятор финальной стадии аутофагического процесса слияния аутофагосомы с лизосомой – лизосом-ассоциированные мембранные белки (гликозилированные белки) – LAMP-2 [20–22]. На основании того, что при этанол/липосахаридной модели ОП экспрессия LAMP-2 в панкреатических ацинарных клетках снижалась, наблюдаемые в большом количестве вакуоли исследователи отнесли к аутофагосомам вследствие нарушения их слияния с лизосомами [23].

Предложено и второе объяснение, согласно которому нарушение аутофагического пути связано с замедлением процессинга лизосомальных протеаз (капепсина L и катепсина В) в их полностью активные зрелые формы [12, 24, 25]. Это заключение подтверждается результатами электронно-микроскопических и иммуногистохимических исследований поджелудочной железы, полученными при моделировании экспериментального алкогольного панкреатита [12]. В ацинарных клетках показаны два морфологически различных типа вакуолей, которые классифицируются как ранние аутофагические вакуоли (преимущественно аутофагосомы), содержащие интактный секвестрированный материал, и поздние аутофагические вакуоли (преимущественно аутолизосомы), содержащие частично расщепленный материал. Авторы считают, что большое количество поздних аутофагических вакуолей с частично расщепленным материалом, а также увеличение совместно локализованных маркеров лизосом Rab7 и LAMP-2 с аутофагосомным маркером LC3, которое не наблюдается, если блокируется образование аутолизосом, свидетельствуют о том, что нарушение аутофагического пути не связано с этим механизмом [12]. Предполагается, что в лизосомах нарушается баланс между катепсином L, который участвует в деградации трипсиногена и трипсина, и катепсином В, который конвертирует трипсиноген в трипсин. Недостаточная лизосомальная деградация катепсином L, в связи с задержкой его созревания, и увеличенная конвертация катепсином В способствуют внутриклеточному накоплению активного трипсина [12]. Механизмы, ответственные за нарушение процессинга катепсина, изучаются.

Однако наличия только катепсина В в образующихся вакуолях недостаточно для активации трипсиногена. Другое условие для этого процесса – низкий вакуольный pH. Кислый pH повышает уровень каталитической активности катепсина В, необходимый для активации трипсиногена. Недавно идентифицирована вакуолярная АТФаза (vATPase), с помощью которой в эти вакуоли нагнетаются протоны для снижения pH [26].

Некоторые из описанных выше признаков заболевания – нарушение аутофагии, замедление созревания катепсинов, уменьшенная деградация белка, вакуолизация и смерть клеток – схожи с наблюдаемыми при лизосомных заболеваниях, вследствие чего некоторые исследователи считают возможным отнести ОП к группе лизосомальных патологий [12, 27].

Следует отметить, что рассмотренные механизмы активации трипсиногена установлены на экспериментальных моделях ОП у грызунов. Роль этих механизмов в развитии ОП у человека еще требует подтверждений. Известно, что кроме активации катепсинами трипсиноген человека способен к процессу аутоактивации. В норме фракция человеческого трипсиногена активируется трипсином при низких значениях pH и становится патологической только при блоке секреции. Этот процесс регулируется эндогенными ингибиторами протеаз (a1-антитрипсин, ПИТ). Ингибиторы блокируют активность трипсина, предотвращая аутоактивацию трипсиногена. Если блокирующей способности антипротеазных систем недостаточно, происходит преждевременная массивная активация трипсиногена и запускается каскад активации трипсином остальных пищеварительных ферментов. В поддержку теории преждевременной активации трипсиногена и аутопереваривания при остром панкреатите послужили открытия в области мутации генов. У пациентов с наследственным панкреатитом идентифицированы две мутации трипсиногена, препятствующие инактивации трипсина, вследствие чего создается возможность формирования активного трипсина, устойчивого к деградации, с последующей активацией им других пищеварительных ферментов. У генетически модифицированных мышей с индуцированным ОП отсутствие трипсиногена 7-го гена – аналога катионического трипсиногена человека – оказывает протективный эффект на поджелудочную железу. Предполагается, что именно преждевременная активация пищеварительных ферментов, вызванная мутацией трипсиногена, играет основную роль в развитии наследственного панкреатита у человека [28].

В настоящее время механизм повреждения ацинарных клеток при ОП представляется как многокомпонентный процесс, в котором в качестве одного из регулирующих факторов молекулярного уровня рассматривается нарушение гомеостаза  $Ca^{2+}$ . На экспериментальных моделях острого алкогольного панкреатита получены данные, подтверждающие, что избыточные кальциевые сигналы могут в конечном итоге привести к некрозу ацинарных клеток, способствуя, с одной стороны, преждевременной активации трипсина, с другой – деполаризации митохондрий и снижению АТФ [7, 8].

В физиологических условиях большая часть кальция депонируется в эндоплазматической сети (ЭС), локализованной в базолатеральной части секреторных клеток. В экспериментальных работах на изолированных панкреатических клетках и небольших кластерах установлено, что под влиянием стимуляторов (ацетилхолина, холецистокинина) ионы кальция освобождаются и запускают секреторный процесс [29].

Хотя большинство работ по изучению кальциевых сигналов выполнены на изолированных клетках мышей, основные результаты были подтверждены на изолированных ацинарных клетках человека и поджелудочной железе животных *in vivo* [30]. Установлено, что внутриклеточным медиатором, через который действуют стимуляторы секреции, является инозитолтрифосфат ( $IP_3$ ), рецепторы к которому расположены преимущественно в мембранах ЭС [31]. Однако в апикальной зоне ацинарных клеток, где встречаются только тонкие элементы ЭС, проникающие к апикальной мембране [32], иммуногистохимически обнаружена значительная концентрация инозитолтрифосфатных рецепторов [33]. Открытие  $IP_3$  в изолированных зимогенных гранулах [34] позволило предположить, что сигналы  $Ca^{2+}$  могут возникать из зимогенных гранул, что позже было детально продемонстрировано [35].

Введение физиологических доз стимуляторов секреции  $IP_3$  способствует быстрому и временному повышению уровня  $Ca^{2+}$  как внутриклеточного вторичного мессенджера для экзоцитоза

пищеварительных ферментов, освобождая его преимущественно из зимогенных гранул. Внутриклеточный уровень  $\text{Ca}^{2+}$  строго контролируется. Расстройство регулирующих механизмов нарушает его гомеостаз. Гиперстимуляция высокими дозами секретагог вызывает устойчивый патологический подъем цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$ , обусловленный выходом его из внутриклеточных депо, что приводит к активации трипсина и формированию вакуолей. Предполагается, что токсичные неокисленные метаболиты алкоголя и длинноцепочных жирных кислот, подобно высоким дозам секретагог, способствуют увеличению  $\text{IP}_3$ , опосредуя массивное и продолжительное освобождение  $\text{Ca}^{2+}$  из зимогенных гранул и ЭС в цитозоль [36]. Значительная потеря  $\text{Ca}^{2+}$ , рассматриваемого в качестве стабилизирующего фактора зимогенов для защиты от аутоактивации и аутопереваривания, может привести к лизису зимогенов. Снижение  $\text{Ca}^{2+}$  в ЭС триггирует поступление внеклеточного кальция через открывающиеся каналы  $\text{SOC}_s$  (store-operated channels) плазматической мембраны [37]. Кроме того, угнетение АТФ-азы кальциевого насоса гладкой ЭС (SERCA) и кальциевой АТФ-азы плазматической мембраны (PMCA) способствует увеличению внутриклеточного кальция и повреждению ацинарных клеток метаболитами этанола [38].

Существует ряд механизмов, которые позволяют клетке справиться с перегрузкой кальцием при условии непродолжительного увеличения его уровня. Среди таких механизмов важная роль принадлежит митохондриям, которые могут захватывать и депонировать довольно большие количества кальция. Однако стойкая и продолжительная высокая перегрузка кальцием приводит к дисфункции митохондрий, нарушению продукции АТФ и некрозу [6, 35]. Установлено, что при ОП, моделируемом у мышей комбинацией этанола и пальмитолеиновой кислоты (FAEE-AP), которые вместе образуют в клетках токсичные этиловые эфиры жирных кислот [38], открываются неспецифические каналы внутренней мембраны митохондрий (MPTP), что приводит к потере электрохимического потенциала, необходимого для синтеза АТФ [7, 35].

Ацинарные клетки – экзокринные клетки с высокой секреторной активностью, которые зависят от продукции АТФ [29]. Совместное исследование MPTP большим коллективом авторов Британии, США, Украины и других стран, выполненное на нескольких моделях панкреатита у мышей, в том числе FAEE-AP, и изолированных ацинарных клетках мышей и человека с применением современных биологических методов, включая конфокальную микроскопию [7], привело к заключению о важной роли увеличения проницаемости кальциевых митохондриальных каналов в развитии панкреатита. Согласно полученным экспериментальным данным, инозитолтрифосфатные и рианозиновые рецепторы панкреатических ацинарных клеток очень уязвимы к токсическому влиянию метаболитов этанола, увеличивая открытие кальциевых каналов и снижая продукцию АТФ [38]. Без достаточного уровня АТФ избыток цитозольного  $\text{Ca}^{2+}$  вызывает порочный круг, в котором низкая способность транспортной АТФ-азы SERCA и PMCA нарушает кальциевый гомеостаз, поддерживая дальнейшее повреждение митохондрий и ускоряя некротическую смерть клеток. Как известно, гибель панкреатоцитов при ОП происходит путем некроза, апоптоза и аутофагии [39, 40].

Существует мнение, что для успешного апоптоза, в частности для формирования апоптосомы, ацинарная клетка нуждается в макроэргах [41]. Замечено, что при подъеме  $\text{Ca}^{2+}$ , вызванном секретагогами, отмечается временный подъем АТФ в цитозоле и митохондриях [38]. Вследствие коллапса потенциала митохондриальных мембран и истощения АТФ при экспериментальном ОП перегрузка  $\text{Ca}^{2+}$  в результате воздействия неокисленных метаболитов этанола не сопровождается сопутствующим подъемом уровня цитозольного и митохондриального АТФ ацинарных клеток, а заканчивается их некрозом [42]. Угнетение открытия каналов MPTP фармакологическими средствами защищает митохондриальные мембраны, синтез АТФ и предупреждает некроз ацинарных клеток, обусловленный патологическим увеличением  $\text{Ca}^{2+}$ . В связи с этим ингибиторы открытия каналов MPTP рассматриваются в качестве потенциальных лекарственных средств при ОП [7]. Следовательно,  $\text{Ca}^{2+}$  и митохондрии не только принимают участие в регуляции функций ацинарных клеток, но и являются важными посредниками их гибели в виде некроза либо апоптоза, от чего во многом зависит дальнейшее течение заболевания. Предполагается, что под влиянием этанола и его метаболитов в ацинарных клетках усиливается генерация активных

форм кислорода. Выделение свободных радикалов кислорода и окислительный стресс запускают механизм перекисного окисления липидов, что приводит к истощению внутриклеточных антиоксидантных систем, повреждению мембран, перемещению ядерного фактора карра В (NF-κB) в ядра. Этот фактор индуцирует транскрипцию в ядре нескольких генов мишеней с дальнейшим синтезом хемокинов и провоспалительных цитокинов [43]. Активация транскрипционного фактора NF-κB вовлекает воспалительный путь в патогенез ОП. Возможно, что перемещение NF-κB – ранняя, не зависящая от активации трипсиногена реакция. Роль редокс-состояния в активации трипсиногена и NF-κB, их взаимоотношения при развитии ОП продолжают обсуждаться [5, 43].

Таким образом, проанализированные литературные сведения, базирующиеся в основном на результатах экспериментальных работ, моделирующих ОП, свидетельствуют, что этанол и токсичные продукты, образующиеся в ацинарных клетках поджелудочной железы в результате метаболизма (ацетальдегид, этиловые эфиры жирных кислот), можно рассматривать в качестве патогенетических факторов заболевания. Механизмы вызываемых повреждений ацинарных клеток многокомпонентны и тесно связаны между собой. На начальной стадии заболевания они приводят к следующим структурно-функциональным изменениям ацинарных клеток, способствующим преждевременной внутриклеточной активации трипсиногена и аутоагрессии: устойчивому увеличению цитозольного и митохондриального кальция, дестабилизации лизосом и зимогенных гранул, нарушению аутофагии, деполяризации митохондрий, снижению АТФ и некрозу.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

#### Список использованных источников

1. Острый панкреатит. Дифференцированная лечебно-диагностическая тактика / М. В. Лысенко [и др.]. – М. : Литтерра, 2010. – 165 с.
2. Маев, И. В. Болезни поджелудочной железы : в 2 т. / И. В. Маев, Ю. А. Кучерявый. – М. : Медицина, 2008. – Т. 2. – 558 с.
3. Lankisch, P. G. Acute pancreatitis / P. G. Lankisch, M. Apte, P. A. Banks // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2017. – № 2. – С. 3–13.
4. Acute pancreatitis in five european countries: etiology and mortality / L. Gullo [et al.] // *Pancreas*. – 2002. – Vol. 24, N 3. – P. 223–227. <https://doi.org/10.1097/00006676-200204000-00003>
5. Singh, P. Pathophysiological mechanisms in acute pancreatitis: current understanding / P. Singh, P. K. Garg // *Indian J. Gastroenterol.* – 2016. – Vol. 35, N 3. – P. 153–166. <https://doi.org/10.1007/s12664-016-0647-y>
6. Calcium signalling in the acinar environment of the exocrine pancreas: physiology and pathophysiology / O. Gryshchenko [et al.] // *J. Physiol.* – 2018. – Vol. 596, N 14. – P. 2663–2678. <https://doi.org/10.1113/jp275395>
7. Mechanism of mitochondrial permeability transition pore induction and damage in the pancreas: inhibition prevent acute pancreatitis by protecting production of ATP / R. Mukherjee [et al.] // *Gut*. – 2015. – Vol. 65, N 8. – P. 1333–1346. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308553>
8. Gukovsky, I. Organellar dysfunction in the pathogenesis of pancreatitis / I. Gukovsky, S. J. Pandol, A. S. Gukovskaya // *Antioxid. Redox Signal.* – 2011. – Vol. 15, N 10. – P. 2699–2710. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4068>
9. Caerulein-induced in vitro activation of trypsinogen in rat pancreatic acini mediated by cathepsin B / A. K. Saluja [et al.] // *Gastroenterology*. – 1997. – Vol. 113, N 1. – P. 304–310. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(97\)70108-2](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(97)70108-2)
10. Activation of trypsinogen in large endocytic vacuoles of pancreatic acinar cells / M. W. Sherwood [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2007. – Vol. 104, N 13. – P. 5674–5679. <https://doi.org/10.1073/pnas.0700951104>
11. Effects of ethanol and protein deficiency on pancreatic digestive and lysosomal enzymes / M. V. Apte [et al.] // *Gut*. – 1995. – Vol. 36, N 2. – P. 287–293. <https://doi.org/10.1136/gut.36.2.287>
12. Impaired autophagic flux mediates acinar cell vacuole formation and trypsinogen activation in rodent models of acute pancreatitis / O. A. Mareninova [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2009. – Vol. 119, N 11. – P. 3340–3355. <https://doi.org/10.1172/jci38674>
13. MiR-352 participates in the regulation of trypsinogen activation in pancreatic acinar cells by influencing the function of autophagic lysosomes / Z. Song [et al.] // *Oncotarget*. – 2018. – Vol. 9, N 13. – P. 10868–10879. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24220>
14. Parzych, K. R. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation / K. R. Parzych, D. J. Klionsky // *Antioxid. Redox Signal.* – 2014. – Vol. 20, N 3. – P. 460–473. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5371>
15. Pancreatic acinar ultrastructure in human acute pancreatitis / H. Helin [et al.] // *Virchows. Arch. A Pathol. Anat. Histol.* – 1980. – Vol. 387, N 3. – P. 259–270. <https://doi.org/10.1007/bf00454829>
16. Niederau, C. Intracellular vacuoles in experimental acute pancreatitis in rats and mice are an acidified compartment / C. Niederau, J. H. Grendell // *J. Clin. Invest.* – 1988. – Vol. 81, N 1. – P. 229–236. <https://doi.org/10.1172/jci113300>
17. Calcium dependent enzyme activation and vacuole formation in the apical granular region of pancreatic acinar cells / M. Raraty [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2000. – Vol. 97, N 24. – P. 13126–13131. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.24.13126>

18. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes / D. J. Klionsky [et al.] // *Autophagy*. – 2008. – Vol. 4. – P. 151–175.
19. Nixon, R. A. Neurodegenerative lysosomal disorders: a continuum from development to late age / R. A. Nixon, D.-S. Yang, J.-H. Lee // *Autophagy*. – 2008. – Vol. 4, N 5. – P. 590–599. <https://doi.org/10.4161/auto.6259>
20. Role of LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy / E.-L. Eskelinen [et al.] // *Mol. Biol. Cell*. – 2002. – Vol. 13, N 9. – P. 3355–3368. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-02-0114>
21. LAMP proteins are required for fusion of lysosomes with phagosomes / K. K. Huynh [et al.] // *EMBO J*. – 2007. – Vol. 26, N 2. – P. 313–324. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601511>
22. Levine, B. Autophagy in the pathogenesis of disease / B. Levine, G. Kroemer // *Cell*. – 2008. – Vol. 132, N 1. – P. 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.018>
23. Impaired autolysosome formation correlates with Lamp-2 depletion: role of apoptosis, autophagy, and necrosis in pancreatitis / F. Fortunato [et al.] // *Gastroenterology*. – 2009. – Vol. 137, N 1. – P. 350–360.e5. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.003>
24. Gukovskaya, A. S. Autophagy and pancreatitis / A. S. Gukovskaya, I. Gukovsky // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. – 2012. – Vol. 303, N 9. – P. 993–1003. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00122.2012>
25. Inflammation, autophagy, and obesity: common features in the pathogenesis of pancreatitis and pancreatic cancer / I. Gukovsky [et al.] // *Gastroenterology*. – 2013. – Vol. 144, N 6. – P. 1199–1209.e4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.007>
26. Vacuolar ATPase regulates zymogen activation in pancreatic acini / S. D. Waterford [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2004. – Vol. 280, N 7. – P. 5430–5434. <https://doi.org/10.1074/jbc.m413513200>
27. Czaja, M. J. Functions of autophagy in hepatic and pancreatic physiology and disease / M. J. Czaja // *Gastroenterology*. – 2011. – Vol. 140, N 7. – P. 1895–1908. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.04.038>
28. Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene / D. C. Whitcomb [et al.] // *Nat. Genet*. – 1996. – Vol. 14, N 2. – P. 141–145. <https://doi.org/10.1038/ng1096-141>
29. Petersen, O. H. Polarized calcium signaling in exocrine gland cells / O. H. Petersen, A. V. Tepikin // *Annu. Rev. Physiol*. – 2008. – Vol. 70, N 1. – P. 273–299. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100618>
30. *Ex vivo* human pancreatic slice preparations offer a valuable model for studying pancreatic exocrine biology / T. Liang [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2017. – Vol. 292, N 14. – P. 5957–5969. <https://doi.org/10.1074/jbc.m117.777433>
31. Long-distance communication between muscarinic receptors and Ca<sup>2+</sup> release channels revealed by carbachol uncaging in cell-attached patch pipette / M. C. Ashby [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2003. – Vol. 278, N 23. – P. 20860–20864. <https://doi.org/10.1074/jbc.m302599200>
32. Berridge, M. J. Inositol trisphosphate and calcium signaling / M. J. Berridge // *Nature*. – 1993. – Vol. 361. – P. 315–325.
33. The distribution of the endoplasmic reticulum in living pancreatic acinar cells / O. V. Gerasimenko [et al.] // *Cell. Calcium*. – 2002. – Vol. 32, N 5–6. – P. 261–268. <https://doi.org/10.1016/s0143416002001938>
34. Polarized expression of Ca<sup>2+</sup> channels in pancreatic and salivary gland cells – correlation with initiation and propagation of [Ca<sup>2+</sup>] I waves / M. G. Lee [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 1997. – Vol. 272, N 25. – P. 15765–15770. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.25.15765>
35. Dynamic changes in cytosolic and mitochondrial ATP levels in pancreatic acinar cells / S. G. Voronina [et al.] // *Gastroenterology*. – 2010 – Vol. 138, N 5. – P. 1976–1987.e5. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.01.037>
36. Pancreatic protease activation by alcohol metabolite depends on Ca<sup>2+</sup> release via acid store IP<sub>3</sub> receptors / J. V. Gerasimenko [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2009. – Vol. 106, N 26. – P. 10758–10763. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904818106>
37. Petersen, O. H. Ca<sup>2+</sup> tunneling through the ER lumen as a mechanism for delivering Ca<sup>2+</sup> entering via store-operated Ca<sup>2+</sup> channels to specific target sites / O. H. Petersen, R. Courjaret, K. Machaca // *J. Physiol*. – 2017. – Vol. 595, N 10. – P. 2999–3014. <https://doi.org/10.1113/jp272772>
38. Fatty acid ethyl ester synthase inhibition ameliorates ethanol-induced Ca<sup>2+</sup>-dependent mitochondrial dysfunction and acute pancreatitis / W. Huang [et al.] // *Gut*. – 2013. – Vol. 63, N 8. – P. 1313–1324. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304058>
39. Gukovskaya, A. S. Cell death pathways in pancreatitis and pancreatic cancer / A. S. Gukovskaya, S. J. Pandol // *Pancreatol*. – 2004. – Vol. 4, N 6. – P. 567–586. <https://doi.org/10.1159/000082182>
40. Острый панкреатит: морфологические аспекты течения заболевания / В. Г. Фирсова [и др.] // *Анналы хирург. гепатологии*. – 2014. – Т. 19, №1. – С. 86–95.
41. Thrower, E. C. Molecular and cellular mechanisms of pancreatic injury / E. C. Thrower, F. S. Gorelick, S. Z. Husain // *Curr. Opin. Gastroenterol*. – 2010. – Vol. 26, N 5. – P. 484–489. <https://doi.org/10.1097/mog.0b013e32833d119e>
42. Gerasimenko, J. V. The role of Ca<sup>2+</sup> in the pathophysiology of pancreatitis / J. V. Gerasimenko, O. V. Gerasimenko, O. H. Petersen // *J. Physiol*. – 2013. – Vol. 592, N 2. – P. 269–280. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.261784>
43. The role of NF-kappa B activation in the pathogenesis of acute pancreatitis / Z. Rakonczay [et al.] // *Gut*. – 2007. – Vol. 57, N 2. – P. 259–267. <https://doi.org/10.1136/gut.2007.124115>

## References

1. Lysenko M., Devyatov A., Ursov S., Pas'ko V., Gritsyuk A. *Acute pancreatitis. Differentiated diagnostic and treatment tactics*. Moscow, Litterra Publ., 2010. 165 p. (in Russian).
2. Maev I. V., Kucheryavyy Yu. A. *Diseases of the pancreas. Vol. 2*. Moscow, Meditsina Publ., 2008. 558 p. (in Russian).
3. Lankisch P. G., Apte M., Banks P. A. Acute pancreatitis. *Gastroenterologiya Sankt-Peterburga* [Gastroenterology of St. Petersburg], 2017, no. 2, pp. 3–13.

4. Gullo L., Migliori M., Olah A., Farkas G., Levy P., Arvanitakis C., Lankisch P., Beger H. Acute pancreatitis in five european countries: etiology and mortality. *Pancreas*, 2002, vol. 24, no. 3, pp. 223–227. <https://doi.org/10.1097/00006676-200204000-00003>
5. Singh P., Garg P. K. Pathophysiological mechanisms in acute pancreatitis: current understanding. *Indian Journal of Gastroenterology*, 2016, vol. 35, no. 3, pp. 153–166. <https://doi.org/10.1007/s12664-016-0647-y>
6. Gryshchenko O., Gerasimenko J. V., Peng S., Gerasimenko O. V., Petersen O. H. Calcium signalling in the acinar environment of the exocrine pancreas: physiology and pathophysiology. *Journal of Physiology*, 2018, vol. 596, no. 14, pp. 2663–2678. <https://doi.org/10.1113/jp275395>
7. Mukherjee R., Mareninova O. A., Odinkova I. V., Huang W., Murphy J., Chvanov M. [et al.]. Mechanism of mitochondrial permeability transition pore induction and damage in the pancreas: inhibition prevent acute pancreatitis by protecting production of ATP. *Gut*, 2015, vol. 65, no. 8, pp. 1333–1346. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2014-308553>
8. Gukovsky I., Pandol J. S., Gukovskaya A. S. Organellar dysfunction in the pathogenesis of pancreatitis. *Antioxidants and Redox Signaling*, 2011, vol. 15, no. 10, pp. 2699–2710. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4068>
9. Saluja A. K., Donovan E. A., Yamanaka K., Yamaguchi Y., Hofbauer B., Steer M. L. Caerulein-induced *in vitro* activation of trypsinogen in rat pancreatic acinus mediated by cathepsin B. *Gastroenterology*, 1997, vol. 113, pp. 304–310. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(97\)70108-2](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(97)70108-2)
10. Sherwood M. W., Prior I. A., Voronina S. G., Barrow S. L., Woodsmith J. D., Gerasimenko O. V., Petersen O. H., Tepikin A. V. Activation of trypsinogen in large endocytic vacuoles of pancreatic acinar cells. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 2007, vol. 104, no. 13, pp. 5674–5679. <https://doi.org/10.1073/pnas.0700951104>
11. Apte M. V., Wilson J. S., Korsten M. A., McCaughan G. W., Haber P. S., Pirola R. C. Effects of ethanol and protein deficiency on pancreatic digestive and lysosomal enzymes. *Gut*, 1995, vol. 36, no. 2, pp. 287–293. <https://doi.org/10.1136/gut.36.2.287>
12. Mareninova O. A., Hermann K., French S. W., O’Konski M. S., Pandol S. J., Webster P., Erickson A. H., Katunuma N., Gorelick F. S., Gukovsky I., Gukovskaya A. S. Impaired autophagic flux mediates acinar cell vacuole formation and trypsinogen activation in rodent models of acute pancreatitis. *Journal of Clinical Investigate*, 2009, vol. 119, no. 11, pp. 3340–3355. <https://doi.org/10.1172/jci38674>
13. Song Z., Huang Y., Liu C., Lu M., Li Z., Sun B., Zhang W., Xue D. MiR-352 participates in the regulation of trypsinogen activation in pancreatic acinar cells by influencing the function of autophagic lysosomes. *Oncotarget*, 2018, vol. 9, no. 13, pp. 10868–10879. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.24220>
14. Parzych K. R., Klionsky D. J. An overview of autophagy: morphology, mechanism, and regulation. *Antioxidants and Redox Signaling*, 2014, vol. 20, no. 3, pp. 460–473. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5371>
15. Helin H., Mero M., Markkula H., Helin M. Pancreatic acinar ultrastructure in human acute pancreatitis. *Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histology*, 1980, vol. 387, no. 3, pp. 259–270. <https://doi.org/10.1007/bf00454829>
16. Niederau C., Grendell J. H. Intracellular vacuoles in experimental acute pancreatitis in rats and mice are an acidified compartment. *Journal Clinical Investigate*, 1988, vol. 81, no. 1, pp. 229–236. <https://doi.org/10.1172/jci113300>
17. Raraty M., Ward J., Erdemli G., Vaillant C., Neoptolemos J. P., Sutton R., Petersen O. H. Calciumdependent enzyme activation and vacuole formation in the apical granular region of pancreatic acinar cells. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*, 2000, vol. 97, no. 24, pp. 13126–13131. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.24.13126>
18. Klionsky D. J., Abeliovich H., Agostinis P., Agrawal D. K., Aliev G., Askew D. S. [et al.]. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy in higher eukaryotes. *Autophagy*, 2008, vol. 4, pp. 151–175.
19. Nixon R. A., Yang D.-S., Lee J.-H. Neurodegenerative lysosomal disorders: a continuum from development to late age. *Autophagy*, 2008, vol. 4, no. 5, pp. 590–599. <https://doi.org/10.4161/auto.6259>
20. Eskelinen E.-L., Illert A. L., Tanaka Y., Schwarzmann G., Blanz J., Von Figura K., Saftig P. Role of LAMP-2 in lysosome biogenesis and autophagy. *Molecular Biology of the Cell*, 2002, vol. 13, no. 9, pp. 3355–3368. <https://doi.org/10.1091/mbc.e02-02-0114>
21. Huynh K. K., Eskelinen E.-L., Scott C. C., Malevanets A., Saftig P., Grinstein S. LAMP proteins are required for fusion of lysosomes with phagosomes. *European Molecular Biology Organization Journal*, 2007, vol. 26, no. 2, pp. 313–324. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601511>
22. Levine B., Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*, 2008, vol. 132, no. 1, pp. 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.12.018>
23. Fortunato F., Bürgers H., Bergmann F., Rieger P., Büchler M. W., Kroemer G., Werner J. Impaired autolysosome formation correlates with Lamp-2 depletion: role of apoptosis, autophagy, and necrosis in pancreatitis. *Gastroenterology*, 2009, vol. 137, no. 1, pp. 350–360.e5. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2009.04.003>
24. Gukovskaya A. S., Gukovsky I. Autophagy and pancreatitis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2012, vol. 303, no. 9, pp. 993–1003. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00122.2012>
25. Gukovsky I., Li N., Todoric J., Gukovskaya A., Karin M. Inflammation, autophagy, and obesity: common features in the pathogenesis of pancreatitis and pancreatic cancer. *Gastroenterology*, 2013, vol. 144, no. 6, pp. 1199–1209.e4. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2013.02.007>
26. Waterford S. D., Kolodecik T. R., Thrower E. C., Gorelick F. S. Vacuolar ATPase regulates zymogen activation in pancreatic acini. *Journal of Biological Chemistry*, 2004, vol. 280, no. 7, pp. 5430–5434. <https://doi.org/10.1074/jbc.m413513200>
27. Czaja M. J. Functions of autophagy in hepatic and pancreatic physiology and disease. *Gastroenterology*, 2011, vol. 140, no. 7, pp. 1895–1908. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2011.04.038>
28. Whitcomb D. C., Gorry M. C., Preston R. A., Furey W., Sossenheimer M. J., Ulrich Ch. D., Martin S. P. [et al.]. Hereditary pancreatitis is caused by a mutation in the cationic trypsinogen gene. *Nature Genetics*, 1996, vol. 14, no. 2, pp. 141–145. <https://doi.org/10.1038/ng1096-141>



29. Petersen O. H., Tepikin A. V. Polarized calcium signaling in exocrine gland cells. *Annual Review of Physiology*, 2008, vol. 70, no. 1, pp. 273–299. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100618>
30. Liang T., Dolai S., Xie L., Winter E., Orabi A. I., Karimian N., CosenBinker L. I., Huang Y.-C., Thorn P., Cattral M. S., Gaisano H. Y. *Ex vivo* human pancreatic slice preparations offer a valuable model for studying pancreatic exocrine biology. *Journal of Biological Chemistry*, 2017, vol. 292, no. 14, pp. 5957–5969. <https://doi.org/10.1074/jbc.m117.777433>
31. Ashby M. C., Camello-Almaraz C., Gerasimenko O. V., Petersen O. H., Tepikin A. V. Long-distance communication between muscarinic receptors and Ca<sup>2+</sup> release channels revealed by carbachol uncaging in cell-attached patch pipette. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, vol. 278, no. 23, pp. 20860–20864. <https://doi.org/10.1074/jbc.m302599200>
32. Berridge M. J. Inositol trisphosphate and calcium signaling. *Nature*, 1993, vol. 361, pp. 315–325.
33. Gerasimenko O. V., Gerasimenko J. V., Rizzuto R. R., Treiman M., Tepikin A. V., Petersen O. H. The distribution of the endoplasmic reticulum in living pancreatic acinar cells. *Cell Calcium*, 2002, vol. 32, no. 5–6, pp. 261–268. <https://doi.org/10.1016/s0143416002001938>
34. Lee M. G., Xu X., Zeng W. Z., Diaz J., Wojcikiewicz R. J. H., Kuo T. H., Wuytack F., Racymaekers L., Muallem S. Polarized expression of Ca<sup>2+</sup> channels in pancreatic and salivary gland cells – correlation with initiation and propagation of [Ca<sup>2+</sup>]I waves. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, no. 25, pp. 15765–15770. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.25.15765>
35. Voronina S. G., Barrow S. L., Simpson A. W. M., Gerasimenko O. V., Da Silva Xavier G., Rutter G. A., Petersen O. H., Tepikin A. V. Dynamic changes in cytosolic and mitochondrial ATP levels in pancreatic acinar cells. *Gastroenterology*, 2010, vol. 138, no. 5, pp. 1976–1987.e5. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.01.037>
36. Gerasimenko J. V., Lur G., Sherwood M. W., Ebisui E., Tepikin A. V., Mikoshiba K., Gerasimenko O. V., Petersen O. H. Pancreatic protease activation by alcohol metabolite depends on Ca<sup>2+</sup> release via acid store IP3 receptors. *Proceeding of the National Academy of Sciences*, 2009, vol. 106, no. 26, pp. 10758–10763. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904818106>
37. Petersen O. H., Courjaret R., Machaca K. Ca<sup>2+</sup> tunneling through the ER lumen as a mechanism for delivering Ca<sup>2+</sup> entering via store-operated Ca<sup>2+</sup> channels to specific target sites. *Journal of Physiology*, 2017, vol. 595, no. 10, pp. 2999–3014. <https://doi.org/10.1113/jp272772>
38. Huang W., Booth D. M., Cane M. C., Chvanov M., Javed M. A., Elliott V. L. [et al.]. Fatty acid ethyl ester synthase inhibition ameliorates ethanol-induced Ca<sup>2+</sup>-dependent mitochondrial dysfunction and acute pancreatitis. *Gut*, 2013, vol. 63, no. 8, pp. 1313–1324. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2012-304058>
39. Gukovskaya A. S., Pandol S. J. Cell death pathways in pancreatitis and pancreatic cancer. *Pancreatology*, 2004, vol. 4, no. 6, pp. 567–586. <https://doi.org/10.1159/000082182>
40. Firsova V. G., Parshikov V. V., Kuznetsov S. S., Bugrova M. L., Yakovleva E. I. Acute pancreatitis: morphological aspects of the course of the disease. *Annaly khirurgicheskoi gepatologii* [Annals of surgical hepatology], 2014, vol. 19, no. 1, pp. 86–95 ( in Russian).
41. Thrower E. C., Gorelick F. S., Husainb S. Z. Molecular and cellular mechanisms of pancreatic injury. *Current Opinion in Gastroenterology*, 2010, vol. 26, no. 5, pp. 484–489. <https://doi.org/10.1097/mog.0b013e32833d119e>
42. Gerasimenko J. V., Gerasimenko O. V., Petersen O. H. The role of Ca<sup>2+</sup> in the pathophysiology of pancreatitis. *Journal of Physiology*, 2013, vol. 592, no. 2, pp. 269–280. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.261784>
43. Rakonczay Z., Hegyi P., Takacs T., McCarroll J., Saluja A. K. The role of NF-kappa B activation in the pathogenesis of acute pancreatitis. *Gut*, 2007, vol. 57, no. 2, pp. 259–267. <https://doi.org/10.1136/gut.2007.124115>

### Информация об авторе

Можейко Лариса Андреевна – канд. мед. наук, доцент. Гродненский государственный медицинский университет (ул. Горького, 80, 230015, г. Гродно, Республика Беларусь). E-mail: mozhejko-hist@yandex.ru

### Information about the author

Larisa A. Mozheiko – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Grodno State Medical University (80, Gorky Str., 230015, Grodno, Republic of Belarus). E-mail: mozhejko-hist@yandex.ru