

Стадников А.А., Каниюков В.Н., Горбунов А.А., Ломухина Е.А.

Оренбургский филиал ФГУ «МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова
Федерального агентства по оказанию высокотехнологичной медицинской помощи»,

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии

ГОУ ВПО Оренбургской государственной медицинской академии,

Проблемная научно-исследовательская лаборатория «Экспериментально-гистологическое
изучение биотрансплантатов в офтальмохирургии» Южно-Уральского научного центра РАНН

ЗНАЧЕНИЕ ПРОГРАММИРОВАННОЙ ГИБЕЛИ КЛЕТОК (АПОПТОЗА) В ПРОЦЕССАХ ГИСТОГЕНЕЗОВ И ЦИТОДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Представлены новые данные о реактивности и пластичности конъюнктивы экспериментальных животных в условиях замещения ее постравматических дефектов различными трансплантационными материалами. Описана динамика апоптозного процесса у клеток поврежденной слизистой, в том числе в условиях экзогенного введения окситоцина (по показателям электронной микроскопии и иммуноцитохимии – экспрессия синтеза белков p53 и bcl-2).

Актуальность

Феномен апоптоза в настоящее время исследуется особенно интенсивно ввиду открытия важного значения программированной гибели клеток в процессах индивидуального развития животных, гистоорганогенезов, цитодифференцировок [1, 2]. Апоптоз наряду с процессами пролиферации, дифференцировки и некробиоза представляет собой одно из фундаментальных биологических явлений, определяющих клеточный и тканевой гомеостаз.

Термин «апоптоз» (от греч. Apoptosis – опадение лепестков цветка или листьев дерева) появился в 70-х годах XX столетия [6, 7], когда было показано, что для индуцированной цитодеструкции необходимы соответствующие синтезы РНК и проапоптотического белка. При этом подчеркивалось, что основная роль апоптоза состоит в поддержании оптимального количественного баланса функционально специализированных клеток в тканевой системе, в своевременной «выброске» клеток с дефектной ДНК, в уничтожении провизорных тканевых структур.

Апоптоз, выражающийся в деградации хромосомной ДНК, заканчивается распадом клетки на фрагменты, сохраняющие целостность цитолеммы, и поэтому в отличие от некроза не сопровождается развитием воспаления и не вызывает фатального поражения других клеток и тканей организма. Самыми ранними ультраструктурными признаками апоптоза являются резкая конденсация маргинального хроматина уплотнение и вакуолизация цитоплазмы с формированием «дис-

кретных апоптозных телец», которые в дальнейшем фагоцитируются макрофагами. По нашим наблюдениям процесс образования подобных ультраструктур очень кратковременен. Также быстро осуществляется и их макрофагальное лизирование. Поэтому, на наш взгляд, процесс апоптоза часто остается гистологически (и даже электронномикроскопически) не замеченным и трудно морфологически идентифицируемым событием в жизненном цикле клеток.

Поэтому более надежным методическим приемом в изучении явлений апоптоза следует считать иммуноцитохимические методики, позволяющие исследовать метаболизм нуклеотидов, глюкозы, липидов, белков, АТФ, эндонуклеаз и, особенно, апоптозспецифических белков, синтез которых экспрессируется летальными генами [4, 8].

Материалы и методы

В арсенале наших методик используются моноклональные антитела, позволяющие оценить экспрессию двух специфических генов, детерминирующих программированную гибель клеток, по показателям синтеза про- и антиапоптотических белков p53 и bcl-2. Следует заметить, что ген bcl-2 является одним из основных ингибиторов апоптоза [3], способный подавлять апоптоз путем воздействия на перенос кальция через мембраны эндоплазматического ретикулума, отменяя сигнал для вхождения экстрацеллюлярного кальция и предотвращая активацию эндонуклеаз.

Необходимо еще раз подчеркнуть, что апоптоз представляет собой физиологический процесс, противоположный митозу и необходимый для жизнедеятельности животных организмов.

Особенно актуальны те научные исследования, которые посвящены изучению различных факторов, влияющих на апоптоз (цитокины, стероидные гормоны, моноамины, продукты радикальных окислительных реакций, блокаторы кальциевых каналов и эндонуклеаз и др.). При этом в подавляющем числе авторы рассматривают процессы усугубления апоптоза, не касаясь вопросов их лимитирования.

Результаты и обсуждение

В последние годы (2005-2007 гг.) в рамках совместных исследований сотрудников кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии Оренбургской государственной академии и Оренбургского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова проводится изучение реактивных и пластических свойств тканей конъюнктивы экспериментальных животных (кролики) в условиях замещения ее посттравматических дефектов различными трансплантационными материалами (Аллоплант, кадаверный перикард человека). В ходе этих комплексных научных разработок был сделан акцент на установление динамики апоптозного процесса у клеток поврежденной конъюнктивы, в том числе в условиях экзогенного введения одного из адаптогенных гипоталамических нейроморфогенов – окситоцина (по показателям электронной микроскопии и иммуноцитохимии – экспрессия синтеза белков p53 и bcl-2). Было установлено, что раневой дефект конъюнктивы к 15-30 суткам эксперимента замещается рубцовой соединительной тканью, в глубоких слоях которой регистрируются p53-позитивные клетки фибробластического дифферона, что хотя и в меньшей степени отмечено при замещении дефекта Аллоплантом и перикардальным трансплантатом. При этом происходила апоптозная гибель лимфоцитов и макрофагов. В эпителиоцитах слизистой оболочки конъюнктивы, аденоцитах желез регистрировались круп-

ные липосомы, миелиноподобные тельца, аутофагосомы, содержащие те многочисленные продукты, инициирующие апоптоз [5]. В этих сериях опытов показано, что продукты протоонкогена bcl-2 в эпителиоцитах, фибробластах, эндотелиальных клетках были заблокированы.

Описанные иммуноцитохимические изменения в регенерате конъюнктивы в полной мере коррелировали с морфологической картиной репаративной регенерации в зоне дефекта (развитие грубоволокнистой соединительной ткани, инкапсуляция перикардального трансплантата), которая являлась механически укрепляющей областью посттравматического повреждения без признаков органотипического гистогенеза.

Включение в комплекс лечебных мероприятий окситоцина позволило получить новые данные о характере репаративных гистогенезов поврежденной конъюнктивы. Отмечено достоверное снижение числа эпителиоцитов, фибробластов и эндотелиоцитов, вовлеченных в апоптоз (по критериям оценки экспрессии белка p53). Увеличилось количество данных клеточных элементов, экспрессирующих ген bcl-2. На ультраструктурном уровне показано существенное ограничение действия продуктов радикальных окислительных реакций и липидов. Восстанавливалась структура мембранных органелл. Достоверно уменьшалась численность дискретных апоптозных телец как ядерного, так и цитоплазматического генеза. Все это создавало адекватные условия для реализации эпителием, соединительнотканью структурами и сосудами микроциркуляции своих не только гистотипических, но и органотипических потенциалов (формирование органотипического регенерата в области травматического дефекта конъюнктивы).

Заключение

Мы высказываем предположение о том, что окситоцин (один из адаптивных неопептидов гипоталамических нейросекреторных центров) может оказывать корригирующее (либо модулирующее) влияние на передачу экспрессирующего сигнала на ядро эпителиальных и соединительнотканых клеток конъю-

юнктивы, а возможно, на летальные гены, а также на синтез апоптозспецифических белков, активацию эндонуклеаз и фрагментацию ДНК. Однако это суждение нуждается в даль-

нейших исследованиях, имеющих основополагающее значение для дальнейшего развития учения о репаративных гистогенезах, в том числе в аспекте пластической хирургии.

Список использованной литературы:

1. Ярилин, А.А. Апоптоз как адаптивная реакция на стресс-воздействие / А.А. Ярилин // Иммунология. – 1996. – №6. – С.10-14.
2. Apoptosis and muscle cytology / M. Valente, F. Calabrese, G. Thiene, A. Angelini // Am. J. Pathol. – 2005. – Vol.152. – №2. – P.479-484.
3. Bellamy, C.O. Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis / C.O. Bellamy, R.D. Malcomson // Sem. Cancer Biol. – 1995. – Vol.6. – №1. – P.3-11.
4. Diverse form of stress lead to new patterns of gene expression through a common and essential metabolic path way / G.L. Hammond, Y.K. Lai, C.L. Varket, G.T. Williams // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1982. – Vol.79. – №9. – P.3485-3488.
5. Hardwisk, S.J. Programmed cell death in cardiovascular biology and disease / S.J. Hardwisk, I. Hegyi, N.R. Clare // J.Pathol. – 1996. Vol.179. – №2. – P.294-301.
6. Kerr, J.E. Shrinkage necrosis:a distinct mode of cellular death / J.E. Kerr // J.Pathol. – 1971. – Vol.105. – №13. – P.56-61.
7. Pexieder, T. Cell death in the morphogenesis and teratogenesis of the heart / T. Pexieder // Adv. Anat. Embriol. Cell Biol. – 1975. Vol.51. – №1. – P.3-100.
8. Pouyssegur, J. The growth factor-activatable Na/H exchange systemia genetic approach / J. Pouyssegur // Trends Biochem. Sci. – 2005. Vol.3. – P.453-455.