

*Асанова Э.И., Иргашев А.Ш.*

## МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ПРОЯВЛЕНИЕ АПОПТОЗА КЛЕТОК В ЛИМФОИДНЫХ И НЕЛИМФОИДНЫХ ОРГАНАХ ЯКОВ

УДК: 636.22/28:611.4

Основной закон природы включает в себе рождение, жизнь и смерть. Клеточная смерть является важным компонентом в биологическом процессе (4).

Первые высказывания о существовании процесса гибели клеток в многоклеточном организме появились еще в конце XIX века. Однако годом признания апоптоза, как физиологического явления, считается 1972 год, когда английские исследователи Kerr, Wyllie, Currie представили убедительные морфологические доказательства существования этого явления. Апоптоз как явление впервые был описан морфологами. Основываясь на микроскопической картине гибнущей клетки, они установили, что клетки погибают, по крайней мере, двумя путями: некроз и апоптоз. В отличие от некроза, при котором клетка раздувается и лопаются, выбрасывая свое содержимое в межклеточное пространство, при апоптозе клетка уменьшается в размере и делится на части - апоптосомы. В результате остатки клетки могут быть поглощены (путем фагоцитоза) соседними клетками или макрофагами (5).

Термин «апоптоз» имеет синонимы: «зернистый распад лимфоцитов», «клазматоз» (10), «массовый распад лимфоцитов», «распад лимфоцитов» (7,8), «кариолитические тельца», «сфероцитоз», «зейоз», «тельца Каунсилмена», «сморщенный некроз» и более современное название «программированная клеточная смерть» (4,5). Появление разных названий этого явления объясняется тем, что в разное время ученые независимо друг от друга наблюдали это явление при чистке гистологических препаратов из органов и согласно картине давали свои названия.

Апоптоз, в сущности, представляет собой самоубийство клетки, поскольку он осуществляется вследствие срабатывания собственных внутренних механизмов клеток. В отличие от некроза, апоптоз проявляется в разбросанных отдельных клетках асинхронно и он не ассоциирован с воспалением.

С 1990-х годов механизм развития апоптоза активно изучается. Апоптоз важен для иммунитета: **Т-клетки**, созревая в **тимусе**, тестируются на способность распознавать чужеродный **антиген**. Те из них, которые не способны это сделать (а это около 97 % всех вновь созревающих клеток), приговариваются к апоптозу. Следующий тест – тест на безопасность «для

своих»: клетки, слишком сильно реагирующие на собственные белки, тоже приговариваются к апоптозу. В дальнейшем, встретив клетку с чужеродным белком, Т-клетки и **В-клетки** подают ей сигнал на совершение апоптоза (9).

Поддержание гомеостаза, в том числе и клеточного, является одним из основных свойств всего живого. Оно осуществляется при уравнивании процессов клеточной пролиферации и клеточной гибели. Изучению пролиферации посвящены многие исследования. Значительно меньший интерес существовал в отношении клеточной гибели.

Апоптоз является фундаментальным биологическим процессом, необходимым для удаления поврежденных, старых и инфицированных клеток. Апоптоз занимает ведущее место в эмбриогенезе и инволюции тканей, в поддержании гомеостаза, в сохранении клеточного баланса в физиологических условиях, при удалении клеток с генетическими повреждениями, при лучевых поражениях, росте и терминальной дифференцировке. Он играет роль удаления ясно, что программированная клеточная смерть является важным механизмом поддержания корректного числа клеток в многоклеточном организме.

Апоптоз вовлечен в механизм развития большого количества заболеваний у человека и животных. Предполагается, что развитие лейкоза и опухолевый рост, иммунодефицит являются результатом дисбаланса между пролиферацией клеток и программированной клеточной смертью (4). При противовирусном иммунитете обнаружены значительные отличия интенсивности физиологического апоптоза лимфоцитов селезенки и назоассоциированной лимфоидной ткани (НАЛТ) (соответственно 20-30 % и 6-9 %) (11).

Апоптоз в тимусе используется как индикатор для определения уровня радиационного воздействия и ущерба этого воздействия на организм. Было установлено, что в тимусе уровень апоптоза был достоверно выше ( $P < 0,02$ ) у животных, обитающих в условиях хронического радиационного воздействия. (3).

В норме и при патологиях обмена веществ во внутренней зоне коркового вещества тимуса овец наблюдается зернистый распад – клазматоз, который сопровождается высвобождением ДНК (9). По мнению ряда ученых клазматозу подвергаются мутированные формы лимфоцитов.

Однако, клазматоз усиливается при стрессовых состояниях, так что, возможно, кроме распада мутантов, разрушаются и нормальные лимфоциты. Высвобождающаяся ДНК при клазматозе передает информацию от тимуса к лимфоидной ткани (1), используется на ранних этапах онтогенеза (6), обогащает организм ДНК на ранних стадиях его развития (12), является пластическим материалом, крайне необходимым для клеток при стрессе. По мнению Я.И. Лашене, Е.И. Сталиорайтите, массовый распад лимфоцитов свидетельствует о гиперфункции тимуса (7,8).

В периферических органах иммунной системы при чуме собак апоптоз лимфоидных клеток, в сравнении с нормой, усиливается и гистологически можно видеть картину группового апоптоза лимфоидных клеток (2).

**Цель** настоящей работы заключается в обнаружении физиологического апоптоза в органах иммунной системы клинически здоровых яков, а также в описании и сравнении этого явления в разных органах.

#### **Объекты и методы исследований**

Работа выполнена на кафедре ВСЭ, гистологии и патологии Кыргызского аграрного университета им. К.И. Скрябина и в Институте ветеринарной патологии в городе Гиссен (ФРГ). Материалы для гистологических исследований отбирали у яков в количестве 18 голов в убойном цехе Бишкекского мясоконсервного комбината. Возраст исследованных животных 2-3 года. Объектами исследования служили кусочки лимфоидных органов (тимус, лимфатические узлы, селезенка, легкие и кишечник). Перед взятием материала визуально осматривали все внутренние органы. Кусочки органов фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина, обезвоживали в (1 А, 2 А). Они имеют круглые или овальные формы, интенсивно эозинфильную цитоплазму с плотными фрагментами ядерного хроматина (2 А). Дальше эти клетки распадаются на мелкие интенсивно окрашенные на темно-синий цвет частицы (апоптосомы). Апоптосомы

возрастающих крепостях спирта и заливали в парафин. Серийные срезы готовили на санном микротоме и микротоме новой модификации толщиной 4-7 мкм. Гистосрезы окрашивали гематоксилином (или гемалауном) и эозином.

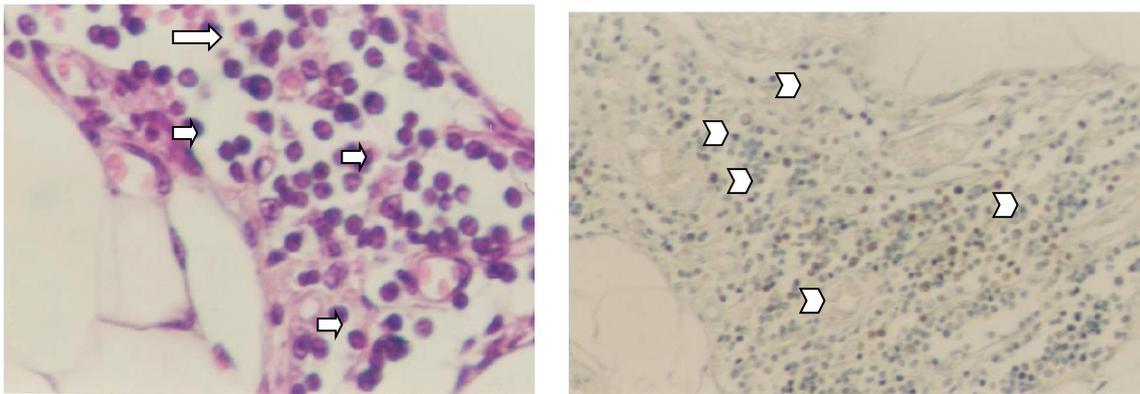
Для идентификации пролиферации клеток использовали антитело Monoclonal Mouse Anti-Proliferating Cell Nuclear Antigen, Clon PC10. Code-Nr. M 0879 (PAP).

При положительной реакции вокруг пролиферирующих клеток появлялся ободок коричневого цвета, ядра клеток окрашивались в синий цвет. При отрицательной реакции вокруг клеток не был отмечен ободок коричневого цвета. Клетки, которые были подвержены апоптозу, были уменьшены в размере и красились на темно-коричневый или черный цвет. Окрашивание срезов производили при комнатной температуре. После завершения окраски срезы покрывали с помощью автомата прозрачной пленкой. Анализ гистопрепаратов проводили под световым микроскопом "PZO (Warszawa)" при слабых и сильных увеличениях.

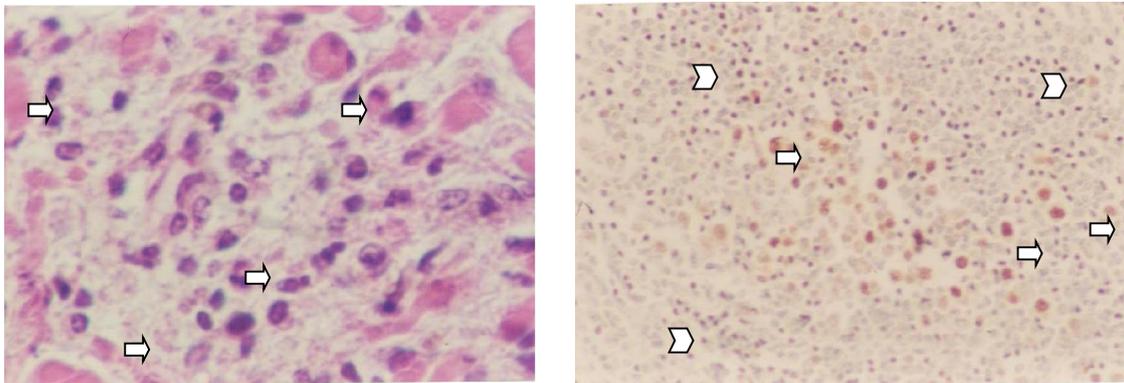
#### **Результаты собственных исследований**

В здоровой ткани апоптоз можно обнаружить под большими увеличениями микроскопа. Выраженный апоптоз клеток можно наблюдать в органах иммунной системы, в частности, в тимусе, лимфатических узлах, селезенке и в слизистой оболочке кишечника здорового яка. Апоптоз, как биологический процесс, имеет видимые под микроскопом свои морфологические особенности. В гистологических препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, апоптоз выявляется в единичных клетках или небольших группах клеток (1 А, 2 А, 3 А). Апоптотные клетки локализуются беспорядочно

поглощаются макрофагами или соседними клетками. Апоптотные клетки выбрасываются в просвет органа (3 А). В органах иммунной системы и кишечника признаки воспалительного процесса отсутствуют (1 А, 2 А, 3 А).

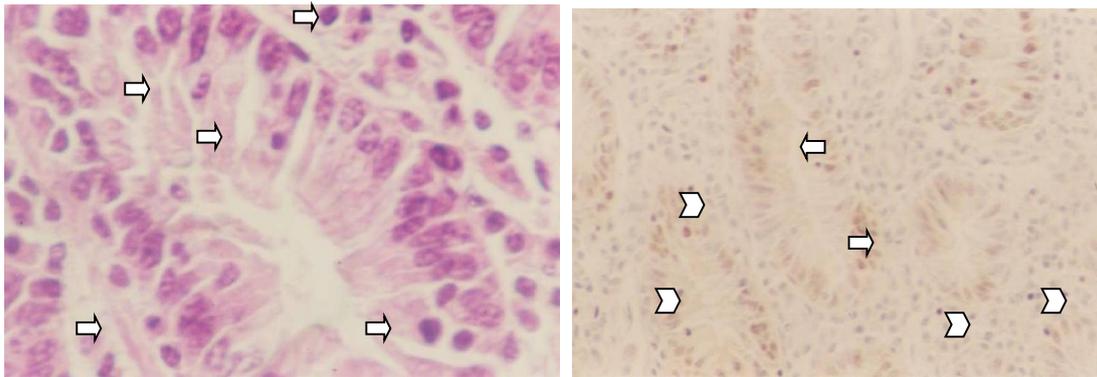


**Рис. 1.** Тимус взрослого здорового яка. А) Возрастная инволюция тимуса и усиленный апоптоз лимфоидных клеток. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x 250.  
 Б). Слабая пролиферация лимфоидных клеток (окрашены коричневым цветом) и увеличение количества апоптозных клеток (окрашены черным цветом) (РАР метод (анти PCNA) x 250).



**Рис. 2.** Селезенка взрослого здорового яка. А) Апоптоз лимфоидных клеток в пульпе селезенки. Ув. x 250.  
 Б) Проллиферация лимфоидных клеток в белой пульпе (окрашены коричневым цветом) и увеличение количества апоптозных клеток как в белой, так и в красной пульпе селезенки (окрашены черным цветом) (РАР метод (анти PCNA) x 250).

Иммуногистохимические исследования дали следующие результаты. В тимусе преобладает процесс апоптоза над пролиферацией лимфоидных клеток (1 Б). Этот физиологический процесс объясняется тем, что тимус подвержен возрастной инволюции. В белой пульпе селезенки одновременно встречается и апоптоз и пролиферация, но в красной пульпе преобладает апоптоз лимфоидных клеток (2 Б). В слизистой оболочке кишечника преобладает процесс пролиферации эпителиальных клеток над их апоптозом. В лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником, отмечается апоптоз лимфоидных клеток.



**Рис. 3.** Кишечник взрослого здорового яка. А) Апоптоз не лимфоидных и лимфоидных клеток. Ув. х 250.

Б) Пролиферация эпителиальных клеток (окрашены коричневым цветом) и апоптоз эпителиальных и лимфоидных клеток как в белой, так и в красной пульпе селезенки (окрашены черным цветом) (РАР метод (анти PCNA) х 250).

Полученные результаты об апоптозе и литературные источники дают нам возможность выделить ряд его морфологических признаков и в сравнительном аспекте четко отличить апоптоз от некроза, хотя оба физиологические процессы отражают гибель клеток. Это следующие морфологические признаки:

- Апоптоз встречается в здоровом организме, так и при патологиях, а некроз только при патологических повреждениях различного рода.

- Фигуры апоптоза отмечаются в отдельных беспорядочно расположенных клетках или в органах иммунной системы и при патологиях в группах клеток, а некроз – отмечается только в группах клеток.

- При апоптозе происходит сморщивание клеток, конденсация ДНК и его распад на фрагменты, целостность клеточной мембраны не нарушается. При некрозе наблюдается набухание и лизис клеток. Целостность мембраны разрушается и содержимое клетки попадает в окружающую ткань.

- Апоптоз не сопровождается воспалительным процессом, а некроз сопровождается воспалительным процессом.

На основе полученных результатов можно сделать следующие научные выводы, касающиеся апоптоза в органах иммунной системы и кишечника яка:

1. Возрастная инволюция тимуса здорового яка сопровождается усиленным апоптозом тимоцитов и угасанием пролиферации тимобластов. В белой пульпе селезенки отмечены как апоптоз, так и пролиферация лимфоидных клеток, но в красной пульпе преобладает апоптоз клеток.
2. В слизистой оболочке кишечника пролиферация эпителиальных клеток преобладает над апоптозом клеток. В кишечноассоциированной

лимфоидной ткани наряду с пролиферацией лимфоидных клеток отмечается и апоптоз.

3. Полученные данные по апоптозу лимфоидных и эпителиальных клеток яка подтверждает, что этот процесс важен, как и процесс пролиферации и является неотъемлемой частью физиологического процесса, направленного на сохранение гомеостаза в органах иммунной системы и кишечника яка.

### Литература

1. Агеев А.К. Гистопатология вилочковой железы человека. – Л.: Медицина. 1973. – 127 с.
2. Алдаяров Н.С. Апоптоз и его биологическое значение // - Б.: Вестник, № 1 (9). – 2008. – С. 175 – 181.
3. Афонин В.Ю., Войтович А.М.. Апоптоз в клетках тимуса европейских рыжих полевок, обитающих на заповедных территориях. –С. 250 – 251.
4. Барышников А.Ю., Шишкин Ю. В. Иммунологические проблемы апоптоза. 2002. - 320 с.
5. Белушкина Н.Н. Роль апоптоза в патогенезе заболеваний. <http://www.science-faculty.net.ru/lek/apoptosis.htm>
6. Брикет Н.Н. Источники кровоснабжения тимуса у ягнят // Морфология сельскохозяйственных животных. Сб. науч. тр., - Л.: 1987. – С. 13 – 17.
7. Лашене Я.И., Сталиорайтите Е. И. О сущности так называемой акцидентальной инволюции вилочковой железы. Архив патологии, 1968, 12, 14.
8. Лашене Я.И., Сталиорайтите Е. И. Эндокринные железы новорожденного (функциональная морфология). - Вильнюс, 1969.
9. Материал из Википедии — свободной энциклопедии.
10. Митрофанов В.М., Иванов А.Г., Стешенко В.М.. Функциональная морфология тимуса у овец тонкорунной породы в норме и при патологии// Вклад науки в изучение и лечение распространенных болезней животных. – Б.: Кырг. СХИ, 1993. – С. 22-31.

11. Найхин А.Н., Петухова Г.Д. и др. Апоптоз и пролиферация лимфоцитов назоассоциированной лимфоидной ткани и селезенки при экспериментальной гриппозной инфекции и вакцинации // Цитокины и воспаление. 2006. Т. 5, № 3. С. 34-39.
12. Соколова М.А., Сейлгазина С.М. Возрастные изменения вилочковой железы свиней// Морфология сельскохозяйственных животных. Сб. науч. тр., - Л.: 1987. – С. 100 – 104.

**Рецензент: д.вет.н., профессор Раимбеков Д.Р.**

---