



Л.Д. Тодоріко, Л.Д. Мигайлюк
Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Деякі аспекти проблеми апоптозу та його місце у формуванні загального синдрому дизадаптації при інфільтративних захворюваннях легень

Мета роботи — аналіз даних, що стосуються вивчення інтенсивності процесів апоптозу і проліферативної активності епітеліоцитів бронхолегеневої тканини, шляхом проведення імуноцитохімічного дослідження при інфільтративних процесах у легенях.

Матеріали та методи. Проведено імуноцитохімічне визначення антигенів Bcl-2, Вах та PCNA (ядерний антиген клітинної проліферації) у бронхіальній тканині 17 пацієнтів з інфільтративними змінами у легенях запального генезу різної етіології із застосуванням тест-системи TACS XL™ (R&D Systems Incorporation, США).

Результати та обговорення. Результати досліджень дали змогу встановити посилення апоптозу епітеліоцитів, оскільки вони супроводжувалися зростанням продукції проапоптичного протеїну Вах на тлі дефіциту синтезу антиапоптичних факторів (протеїну Bcl-2). Не виявлено позитивної реакції на PCNA, що засвідчило зниження проліферативної активності епітеліоцитів бронхів.

Висновки. За інфільтративних змін у легенях відмирання епітеліоцитів відбувається за рахунок посилення апоптозу, який супроводжується компенсаторно підсиленою проліферацією епітеліоцитів та посиленою продукцією проапоптичного протеїну Вах, яка мала великогранулярний характер, на тлі дефіциту синтезу антиапоптичних факторів (протеїну Bcl-2). Експресія PCNA в умовах запалення свідчить про підвищення реплікативної активності ДНК.

Ключові слова

Апоптоз, інфільтративні хвороби легень, запалення, програмована клітинна загибель.

Останнім часом дослідження у сфері молекулярних механізмів програмованої клітинної загибелі (ПКЗ) при захворюваннях легень стали одними з найактуальніших [2, 12, 15]. На сьогодні відомі гени, які регулюють апоптоз [10]. На 18-й хромосомі локалізовано сімейство генів Bcl-2, які регулюють активність апоптозу у взаємодії з іншими генами. Гени Bcl-2 і C-FES гальмують, а гени Вах, Вак, Вад, Р-53, С-МУС, АРО-1/FAS стимулюють апоптоз. Значна роль у пригніченні апоптозу належить мутованому гену білка Р₅₃.

Результати численних досліджень [4, 11, 16] свідчать, що апоптоз — це процес високорегульованої фізіологічної ПКЗ з характерними морфо-

логічними та біохімічними ознаками, за якого відбуваються зміни:

- в ядрі: а) конденсується хроматин (у нормі він представлений відкритими і конденсованими ділянками — гетеро- і еухроматин), який стає суперконденсованим у формі півмісяця і розташовується по периферії ядра; б) фрагментується ДНК до розмірів олігонуклеосом з утворенням мікропухирців у ядерній мембрані; в) каріопікноз; г) колапс ядра з наступною його фрагментацією, що супроводжується утворенням апоптичних тілець;
- у цитоплазмі: а) розширюється ендоплазматичний ретикулум; б) конденсуються та зморщуються гранули; в) знижується трансмембранний потенціал мітохондрій та ін.;

- у клітинній мембрані: а) підвищується її проникність для невеликих молекул; б) втрачається «ворсинчастість»; в) утворюються пухирцеподібні випинання.

Процес апоптозу запускається тоді, коли вичерпуються функціональні можливості клітини [9, 11, 13]. Гени, що забезпечують поділ клітин, блокуються, а відповідальні за синтез літичних ферментів гени — стимулюються. Ці ферменти проникають у ядро і лізують хроматин (хромосоми, комплекс ДНК, РНК і білки). Хромосоми розпадаються, синтез у клітині припиняється. Зовнішніми ознаками апоптозу в клітині є: пікноз (зморщування ядра); хроматолізис (зниження забарвленості ядра); каріорексис (розпад ядра на частини); руйнування цитоплазми і т. ін.

Доведено, що інгібіторами апоптозу є: росткові фактори, екстрацелюлярний матрикс CD-40-ліганд, нейтральні амінокислоти, цинк, естрогени, андрогени [14]. Вплив більшості росткових факторів (цитокінів (ЦК)) на апоптоз здійснюється через специфічні рецептори або FAS-R і регулюється передусім генами сімейства Bcl-2. Одним із найбільш досліджених ферментів, який бере участь у міжнуклеосомній фрагментації ДНК, є сімейство Ca/Mg-залежних ендонуклеаз (En), які змінюють активність за різних фізіологічних та патологічних процесів у організмі, у зв'язку з чим ступінь деградації ДНК до олігонуклеосомних фрагментів, яка здійснюється ендонуклеазами, вважають одним із біологічних маркерів інтенсивності апоптозу [13].

Матеріали та методи

Ми провели імуноцитохімічне (ІЦХ) визначення антигенів Bcl-2, Вах та PCNA (ядерний антиген клітинної проліферації) у бронхіальній тканині 17 пацієнтів з інфільтративними змінами у легенях запального генезу різної етіології за допомогою первинних моноклональних антитіл до цих протеїнів та стрептавідин-біотинової системи візуалізації LSAB2 (DakoCytomation, Denmark). Використовували імуноцитохімічну методику визначення міжнуклеосомальних розривів ДНК — TUNEL із застосуванням тест-системи TACS XL™ (R&D Systems Incorporation, США). Підраховували відсоток PCNA- та TUNEL-позитивних ядер бронхіальних епітеліоцитів. Кількісні дослідження інтенсивності зафарбовування ядер або цитоплазми проводили шляхом отримання цифрових копій (формат Tagged Image File Format) оптичного зображення бронхіальної тканини (об'єктив мікроскопа × 100 — масляна імерсія) та його аналізу за допомогою програми «ВідеоТест-размер 5.0» (Росія). Аналіз здійснювали на підставі зондових замірів (площа кругло-

го зонда — 4 мкм²) інтенсивності забарвлення із обчисленням показника «середня оптична щільність» (СОЩ у. о.). З метою оцінки інтенсивності процесів апоптозу підраховували кількість структур, ідентифікованих як «аоптичні об'єкти» (АО) — TUNEL-позитивні ядра клітин чи TUNEL-позитивні фрагменти ядер. Індекс апоптозу (ІА) визначали як відношення кількості TUNEL-позитивних до кількості TUNEL-негативних клітин, виражене у проміле. Індекс проліферації (ІП) визначали як відношення кількості PCNA-позитивних до кількості PCNA-негативних клітин, виражене у проміле.

Статистичну обробку даних виконували за прикладними програмами для медико-біологічних досліджень на основі програмної оболонки SPSS, версія 13,0 (StatSoft Inc., США).

Результати та обговорення

Результати дослідження біоптатів слизової оболонки бронхів у пацієнтів з інфільтративними змінами у легенях вказують не тільки на ознаки запалення у всіх мазках-зішкребках, а й на те, що є епітеліоцити з ознаками ПКЗ: поява ядер з позитивним TUNEL забарвленням та «аоптичних об'єктів», які також є TUNEL-позитивними (рис. 1). Морфологічно початкова стадія апоптозу характеризується агрегацією ядерного хроматину у вигляді великих часточок, розташованих біля внутрішньої поверхні ядерної мембрани. Контури ядра змінюються та набувають неправильної форми, після чого ядро ділиться на кілька фрагментів, які вміщують частинки хроматину. У цитоплазмі та органелах також спостерігаються певні зміни, цитоплазма стає конденсованою. У подальшому утворюються АО, кожен із яких обмежений мембраною. Деякі з них вміщують один або кілька фрагментів, оточених обводом конденсованої цитоплазми. На кінцевому етапі найчастіше АО фагоцитуються макрофагами або ж видаляються за допомогою інших механізмів.

На сьогодні встановлено, що процес ПКЗ розвивається як мінімум у три стадії [14, 17]. Перша стадія — індукторна (ліганд-рецепторна взаємодія), зумовлена великою кількістю чинників (як внутрішніх — пошкодження ДНК, так і зовнішніх — ФНП-α, ГКС, Fas-ліганд), які індукують процес ПКЗ. Друга фаза апоптозу (ефекторна) — етап передачі сигналу до розвитку апоптозу є відносно універсальною і вміщує в себе каскад послідовних реакцій, суть яких полягає у ступінчастій активізації каспаз або неактивних попередників їх — прокаспаз [9]. Третя, кінцева стадія апоптозу, — деградації. На цій стадії формуються морфологічні і біохімічні зміни як у ядрі, так і в цитоплазмі клітин, що є, власне, наслідком дії

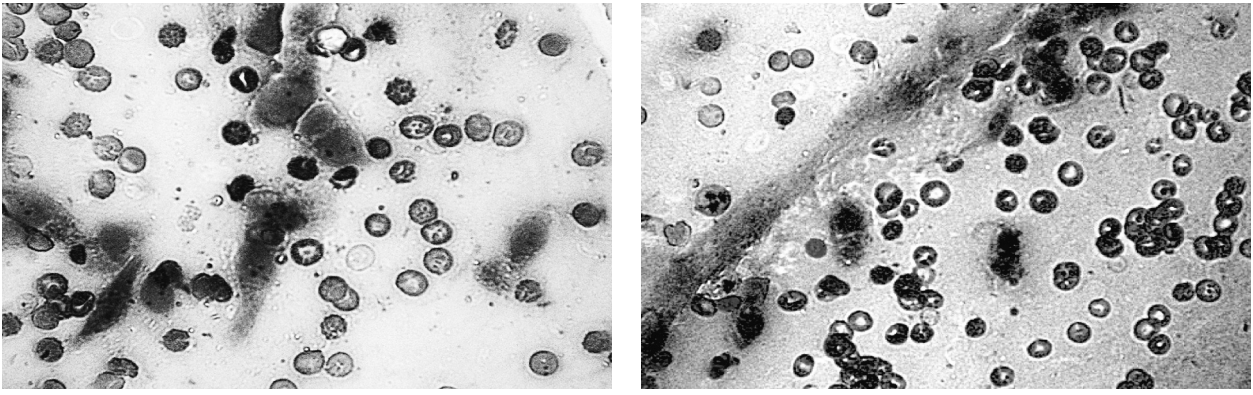


Рис. 1. Імуноцитохімічна методика TUNEL для верифікації ядер з міжнуклеосомальними розривами ДНК (початкова стадія апоптозу). Дофарбовування клітинних ядер азуром II. Мікрофотографії. Об. 100 × (масляна імерсія). Ок. 7 ×

каспаз на клітинні субстрати [7]. Таким чином, фрагментація ДНК може бути виявом якраз кінцевої фази апоптозу — фази деградації.

Установлено [11, 16], що розпізнавання і наступна елімінація клітин, які зазнали апоптозу, відбувається завдяки появі на їхній поверхні специфічних молекул, які в нормі персистують тільки на внутрішній поверхні цитоплазматичної мембрани (тромбосподин, фосфотидилсерин). Важливою особливістю цього процесу є те, що при цьому не буває пошкодження мембран клітин [17]. Механізм такого явища досі остаточно не встановлений, але, безсумнівно, у цьому процесі повинні брати участь транспорт іонів та води. У подальшому апоптична клітина перетворюється на сукупність різних за своїм складом оточених мембраною апоптичних тілець, які фагоцитуються макрофагами або сусідніми клітинами. Клітина на даному етапі ще жива (летальний барвник трипанового синього не включається). Навпевне, в цьому і полягає завдання апоптозу — утилізація ще живих апоптичних тілець, поки вміст клітини не потрапив у позаклітинний простір, щоб не зумовити системних запальних явищ [1, 5, 8]. Тобто знищення клітин шляхом апоптозу забезпечує мінімальне пошкодження тканин порівняно з іншими формами їхньої смерті. Цілісність мембрани клітини, що вмирає, зберігається до повного завершення апоптозу. Після закінчення процесу ПКЗ розташовані поблизу фагоцити поглинають залишки фрагментів клітин, причому це відбувається без розвитку запалення.

Результати низки досліджень свідчать, що апоптоз є процесом, який контролюють і тонко регулюють численні чинники [6, 7, 12, 15]. До них належать сигнальні молекули, які запускають апоптоз (FAS, TNF, деякі цитокіни), рецептори цих молекул (FAS-R, TNF-R, TCR-CD-3), внутрішньоклітинні месенджери отриманого сигналу (FADD, TRADD, RIP), онкосупресори

(p53, p21, pR13), протеїнкінази, протеїнтирозинкінази, фосфатази, серинові протеази (сімейства ICE і Mch), стимулятори апоптозу (Bax, Bcl-xl, BAD, BAK), інгібітори апоптозу (Bcl-2, Bcl-xl), ендонуклеази. Рецептори клітинної загибелі містять FAS-рецептор (FAS-R), TNF-R1, TNF-R2, «рецептор смерті-3» (DR-3) і 4 так звані TNF-асоційовані апоптоз-індукуючі ліганд-рецептори.

Також загально визнано, що одним із чинників, який регулює процеси життєдіяльності клітин, є стан білків-протоонкогенів Bcl-2 [12, 15, 17]. Функціональна активність білків цього сімейства та співвідношення їх (наприклад, Bcl-2/Bax) визначає подальшу долю клітин і лежить в основі загально відомого феномену від'ємної та позитивної селекції тимоцитів. Показано, що основним місцем локалізації білків сімейства є мітохондрії, у міжмембранному просторі яких зосереджено більшу кількість чинників, які здатні брати участь у процесах апоптозу. У зв'язку з цим є справедливою точка зору про провідну роль цих органел у процесах ПКЗ, оскільки їм відводиться роль інтегратора різноманітних стимулів ПКЗ. Беручи до уваги цей факт, окремі дослідники [10, 17] пропонують варіант класифікації стадій ПКЗ, яка ґрунтується на участі мітохондрій у згаданому процесі. Вважають, що перша стадія — індукторна, є передмітохондріальною; друга — ефекторна, є мітохондріальною, а третя, стадія деградації, — постмітохондріальною. Уявлення про функціонування рецепторів клітинної загибелі є теоретичною базою для розробки оптимальної стратегії патогенетичного лікування різних хвороб легень [5, 15].

Ключовою ланкою індукції та реалізації апоптозу є розлади функціональної здатності мітохондрій унаслідок гранзим-В-перфоринозалежного шляху індукції каспази-3 [4]. Індукція послідовного каскаду протеолітичних реакцій призводить до розщеплення білків ядерного матриксу, дестабілізації структури хроматину, фрагментації

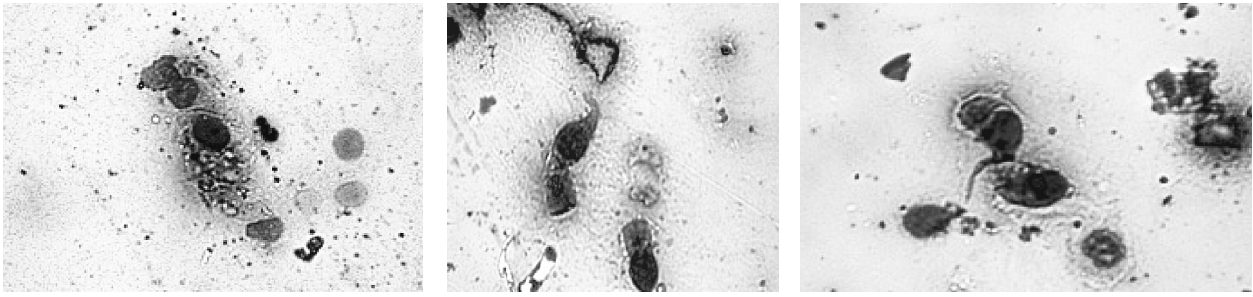


Рис. 2. Імуногістохімічна методика з первинними антитілами до протеїну Bcl-2 та візуалізацією первинних антитіл стрептавідин-біотиновим методом з використанням діамінобензидину. Дофарбовування клітинних ядер азуром II. Мікрофотографії. Об. 100 × (масляна імерсія). Ок. 7 ×

ДНК, втрати реплікативної здатності клітин [7]. Кінцевим результатом апоптичного процесу є порушення цілісної структури клітин з утворенням апоптичних тілець. У разі інфільтративних процесів у легенях у біоптатах слизової оболонки бронхів виявлено, що ступінь експресії білка Вах вірогідно перевищує такий у практично здорових осіб (6,5 проти 2,1 % відповідно; $p < 0,05$). Середні значення ІА у біоптатах слизової оболонки бронхів також вірогідно перевищували такі значення порівняно з нормою ($p < 0,05$). На нашу думку, гальмується проліферація та індукується апоптоз тих епітеліоцитів, що втратили функціональні властивості, з метою активації проліферації нормальних епітеліоцитів з відновленням гістоморфологічної структури ураженої тканини.

На протипагу наведеним вище даним аналіз результатів дослідження експресії Bcl-2 в епітеліоцитах пацієнтів з інфільтративними змінами у легенях вказує на істотний вірогідний дефіцит системних протиапоптичних білків, що і пояснює високий рівень апоптозу. Зокрема, ІЦХ дослідження Bcl-2 продемонструвало здебільшого відсутність експресії цього антигену, і лише в поодиноких епітеліоцитах можна віалізувати слідове забарвлення (СОЩ становила 1,1 у.о. \pm 0,003 у.о.). Середній ступінь забарвлення на Bcl-2 у біоптатах слизової оболонки бронхів при інфільтративних змінах у легенях з еутиреозом був нижчим за такий у ПЗО у 6,2 разу ($p < 0,01$; рис. 2). Встановлено також негативний, слабкої сили, кореляційний зв'язок між ступенем експресії Bcl-2 у цитоплазмі епітеліоциту та наявністю передапоптичних ядер у цих клітинах ($r = 0,234$; $p = 0,02$), тобто зі зниженням ступеня експресії Bcl-2 у цитоплазмі ступінь апоптозу епітеліоцитів зростає.

У разі поєднання високої експресії антигену Вах за відсутності експресії Bcl-2 можна застосувати термін «проапоптичний стан». Чи буде цей стан реалізовано до рівня фрагментації ДНК, залежатиме від повноти каспазного каскаду реакцій, які мають завершуватися активацією ендонуклеаз.

У наших дослідженнях не виявлено великої кількості морфологічних об'єктів, які можна було б описати як АО, а також епітеліоцитів із характерною маргінацією ядерного хроматину, що виникає як початковий морфологічний вияв апоптозу. Натомість наявність епітеліоцитів з високою експресією антигену PCNA вказує на посилення процесів проліферації клітин.

У разі інфільтративних змін у легенях інтенсивність процесів запалення є вищою, що й призводить до загибелі епітеліоцитів через некроз та супроводжується нижчими показниками інтенсивності апоптозу епітеліоцитів і низькою експресією протеїну Вах у цитоплазмі епітеліоцитів на тлі гіпоекспресії протиапоптичних факторів Bcl-2.

Експресія PCNA за умов запалення у бронхолегеневій тканині свідчить про підвищення реплікативної активності ДНК, що може означати не тільки підвищення клітинної проліферації, а й спробу окремих епітеліоцитів відновити пошкоджену ДНК. Якщо ж репарація не вдається, то клітини стають на шлях програмованої смерті, що супроводжується появою не характерної для норми експресії ядерного антигену клітинної проліферації у бронхіальній тканині і є своєрідною компенсаторною реакцією на пошкодження. Під час ІЦХ дослідження протеїну PCNA позитивне забарвлення визначалося у середньому у 2,4 % ядер епітеліоцитів (рис. 3), причому воно ніколи не спостерігалось в ядрах з маргінацією хроматину чи в апоптичних тільцях.

Оскільки в нормі реакції на PCNA в ядрах епітеліоцитів немає, наявність експресії згаданого антигену під час інфільтративних процесів у легенях можна пояснити тим, що цей протеїн є кофактором для ДНК-полімерази у S-фазу мітозу, тобто під час синтезу ДНК за її репарації в разі пошкодження (відбувається активація процесів відновлення пошкодженої ДНК). Пошкодження ядерної ДНК при запальних процесах у легенях зумовлено дією гіпоксемії, тканинної гіпоксії та токсич-

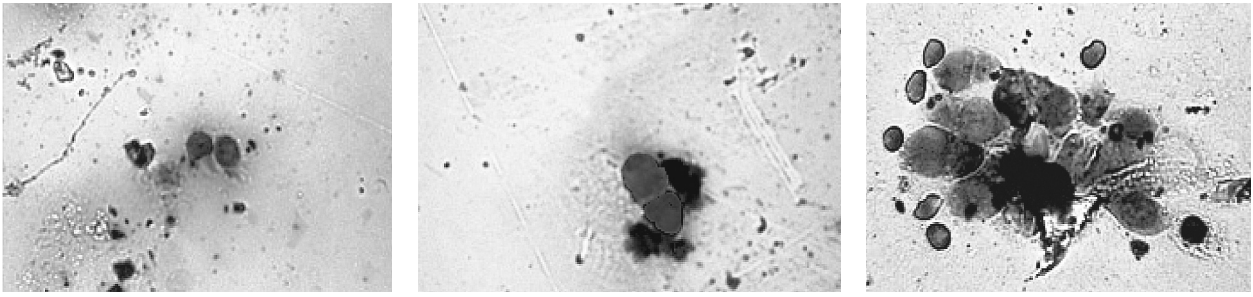


Рис. 3. Імуногістохімічна методика з первинними антитілами проти PCNA та візуалізацією первинних антитіл стрептавідин-біотиновим методом з використанням діамінобензидину. Дофарбовування клітинних ядер азуром II. Мікрофотографії. Об. 100 × (масляна імерсія). Ок. 7 ×

них продуктів ендогенної інтоксикації, що утворюються внаслідок виразного окисдантно-протиокисдантного та протеолітичного дисбалансу із нагромадженням у крові токсичних кінцевих та проміжних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, супроводжуються не тільки посиленою репарацією епітеліоцитів (гіперекспресія PCNA), а й сприяють індукції процесів апоптозу, зокрема посиленій продукції Вах на тлі дефіциту експресії Bcl-2. Одним з основних виявів апоптозу на біохімічному рівні, що реалізується в ядрі, є хаотична фрагментація ДНК [9, 13].

На нашу думку, істотну роль в інтенсифікації апоптозу епітеліоцитів за умов інфільтративно-запальних змін у легенях відіграє вірогідне значне збільшення вмісту в крові прозапальних ЦК (ФНП- α , ІЛ-1 β , ІЛ-6), що беруть участь у реалізації Fas-залежного апоптозу [5], та гіперкортизолемія. Активізація процесів апоптозу епітеліоцитів передбачає розгалужений ланцюг біохімічних реакцій, метою яких є фрагментація ДНК (відбувається у кілька етапів з утворенням спочатку великих, а потім малих складових) та припинення життєдіяльності клітини або запуск механізмів, що запобігають цим процесам (активізація PCNA). Здійснення різних типів деградації ДНК пов'язують з появою активності ендонуклеаз. На заключному етапі клітина втрачає цілісність та знешкоджується макрофагами. Реалізації процесів ПКЗ у цьому випадку сприяють вплив екзотоксинів, АФК, що індукують активізацію прозапальних ЦК, експресію проапоптичних білків (Вах), які, однак, підлягають контролю з боку кортизолу. Розлади функціональної здатності мітохондрій є ключовою ланкою індукції та реалізації апоптозу. Клітинний білок Вах бере участь у перфорації їхніх мембран, унаслідок чого падає мітохондріальний потенціал і відкриваються пори у внутрішній мембрані, через які у цитоплазму виходять апоптозіндукуючий фактор і цитохром С, що у комплексі з цитоплазматичним білком Араф-2 активізують систему кас-

паз (інтерлейкін-конвертувальних протеаз), зокрема каспази-3 [2, 9]. Цим процесам намагається протидіяти система протиапоптичних білків Bcl-2 [15]. Bcl-2/p53-залежний шлях апоптозу реалізується у відповідь на ушкодження генома запальними цитотоксичними агентами, активними формами кисню тощо. Не винятком у разі інфільтративних змін у легенях, передусім запального характеру, є й рецептороопосередкований шлях індукції апоптозу, що реалізується шляхом зв'язування клітинних рецепторів Fas чи ФНП- α з їхніми лігандами та подальшим утворенням смерть-індукувального комплексу (DISK) [13].

Тендітність балансу про- та протиапоптичних механізмів також підтверджує встановлений факт протилежних впливів ФНП- α на епітеліоцити: з одного боку, це індукція апоптозу через стимулювання рецепторів загибелі на клітинах (ФНП- α R1 – домен смерті (p55), ФНП- α R1 – (p75)), CD95+ (APO-1)), а з іншого – гальмування розвитку апоптозу через сфінгомієліновий сигнальний шлях із експресією транскрипційного фактора κ B (NF- κ B), який регулює продукцію протиапоптичних білків [4, 5].

Очевидно, високий індекс апоптозу та проліферації у хворих з інфільтративними змінами у легенях неспецифічного генезу є сприятливим для перебігу запального процесу у них, адже ПКЗ, обмежуючи токсичний потенціал нейтрофілів і епітеліоцитів, сприяє його завершенню. Оскільки апоптоз епітеліоцитів, індукований екстра- та інтрацелюлярними патогенами, має захисний характер, спрямований на елімінацію збудника і відновлення клітинного гомеостазу організму, то за системного характеру запальної реакції зниження інтенсивності ПКЗ, що супроводжується зниженням ІА та ІІ, може сприяти подальшому посиленню персистенції запалення з порушенням цитокінового балансу в бік синтезу агресивних прозапальних ЦК і прогресування патологічного процесу. Оскільки Fas-індукований апоптоз епітеліоцитів супресується глю-

кокортикоїдами, то за дефіциту кортизолу у пацієнтів з інфільтративними процесами у легенях ПКЗ може знижуватися у зв'язку зі зниженням синтезу проапоптичних білків. Установлено, що глюкокортикоїди на ранніх стадіях апоптозу перешкоджають фрагментації ДНК, а на пізніх сприяють цьому процесу [4, 5].

Таким чином, у найбільш узагальненій формі призначення апоптозу полягає у підтриманні постійної кількості клітин, співвідношенні різних клітинних субстанцій, елімінації дефектних клітин, що загалом розглядається як умова підтримання гомеостазу. Вивчення механізмів регулювання різних етапів розвитку апоптозу дасть змогу певною мірою впливати на окремі його етапи з метою регуляції та корекції. Загальноприйнятний погляд, що коли клітина гине від апоптозу, то є можливість терапевтичного втручання, а якщо внаслідок некрозу — то немає. Ідентифікація морфологічних та біохімічних маркерів апоптозу повинна в перспективі сприяти глибшому розумінню механізмів патогенезу захворювань, поліпшенню диференціальної діагностики і створенню принципово нових напрямів терапії. Механізми ПКЗ, послідовність морфологічних і біохімічних змін, які розвиваються в ядрі, цитоплазмі й клітинній мембрані в нормі і при захворюваннях легень, на сьогодні до кінця не вивчені, а літературні дані з цього питання досить суперечливі. Отже, потрібне подальше дослідження.

Висновки

1. За інфільтративних змін у легенях епітеліоцити відмирають за рахунок посилення апопто-

зу (з вірогідною частотою зустрічалися TUNEL-позитивні ядра), який супроводжується компенсаторно посиленою проліферацією епітеліоцитів (гіперекспресія PCNA) та посиленою продукцією проапоптичного протеїну Bax, яка мала великогранулярний характер, на тлі дефіциту синтезу антиапоптичних факторів (протеїну Bcl-2). Це свідчить про готовність клітини до ПКЗ у бронхіальній тканині. Експресія PCNA за умов запалення свідчить про підвищення реплікативної активності ДНК, що може означати не тільки підвищення клітинної проліферації, а й спробу окремих епітеліоцитів відновити пошкоджену ДНК.

2. Для оцінки інтенсивності процесів апоптозу клітин у разі інфільтративних процесів у бронхолегеневій тканині, визначення його ранніх виявів варто використовувати імуноцитохімічну методику підрахунку кількості структур, ідентифікованих як «апоптичні об'єкти», — TUNEL-позитивні ядра клітин чи TUNEL-позитивні фрагменти ядер; визначити індекс апоптозу (співвідношення кількості TUNEL-позитивних і TUNEL-негативних клітин) та індекс проліферації (співвідношення кількості PCNA-позитивних і PCNA-негативних клітин).

Перспективи подальших досліджень. На підставі отриманих результатів можна вважати, що напрями лікування пацієнтів із інфільтративними змінами запального характеру в бронхолегеневій тканині повинні передбачати комплексну протизапальну терапію, яка спрямована на основні ланки хронічного запалення та інгібування медіаторних прозапальних реакцій (цитокіно-апоптичний дисбаланс).

Список літератури

1. Авдеев С.Н. Хроническая обструктивная болезнь легких как системное заболевание // Пульмонология.— 2007.— № 2.— С. 104—116.
2. Льїнська І.Ф., Рекалова О.М., Ареф'єва Л.В. та ін. Апоптоз нейтрофілоцитів та його роль в патогенезі запальних процесів в легенях туберкульозного та неспецифічного генезу // Укр. пульмонол. журн.— 2007.— № 2.— С. 32—38.
3. Несторова І.В., Швядченко І.Н. Регуляція апоптоза в системі нейтрофильных гранулоцитов // Аллергол. и иммунол.— 2001.— № 2.— С. 53—67.
4. Підгайна О.А., Чернушенко К.Ф., Кадан Л.П. та ін. Функціональна активність та апоптоз нейтрофілоцитів периферичної крові у хворих на хронічні неспецифічні захворювання легень // Укр. пульмонол. журн.— 2008.— № 2.— С. 25—29.
5. Тодоріко Л.Д., Рихліцька К.В., Шубравський А.О. Роль апоптозу у формуванні загального синдрому дизадаптації та прогресуванні системного запалення при хронічних обструктивних захворюваннях // Галицький лікарський вісник.— 2010.— Т. 17, № 2.— С. 103—108.
6. Тодоріко Л.Д., Сем'янів І.О. Хронічні обструктивні захворювання легень: особливості патогенезу системних проявів та удосконалення лікування хворих старших вікових груп.— Чернівці, 2011.— 248 с.
7. Almedia C.J., Linder R. Phagocytosis of apoptotic cells: a matter of balance // Cell. Mol. Life Sci.— 2005.— N 62.— P. 1532—1546.
8. Augusti A.G.N., Noguera A., Sauleda J. et al. Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease // Eur. Respir. J.— 2003.— N 21.— P. 347—360.
9. Barnes P.J., Adcock I.M., Ito K. Histone diacetylation and deacetylation importance in inflammatory lung diseases // Eur. Respir. J.— 2005.— Vol. 25, N 3.— P. 552—563.
10. Fumarola C., Guidotti G.G. Stress-induced apoptosis: Toward a symmetry with receptor-mediated cell death // Apoptosis.— 2004.— Vol. 9.— P. 77—82.
11. Genestrier A.L., Michallet M.S., Prevost G. et al. Staphylococcus aureus Panton-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils // J. Clin. Invest.— 2005.— Vol. 11.— P. 3117—3127.
12. Oltvai Z.N., Villiman C.L., Korsmeyer S. Bcl-2 heterodimerises in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death // J. Cell.— 2003.— Vol. 74.— P. 609—619.
13. Plets M.W., Ioanas M., de Rouxet A. et al. Reduced spontaneous apoptosis in peripheral blood neutrophils during exacerbation of COPD // Eur. Respir. J.— 2004.— Vol. 23, suppl. 4.— P. 532—537.
14. Sugawara Y., Aoki K., Bruce C.R. et al. Involvement of NF-kappa B and caspases in silibinin-induced apoptosis of endothelial cells // Int. J. Mol. Med.— 2004.— Vol. 13, N 1.— P. 81—86.

15. Zheng L. Bcl-2 transduction protects human endothelial cell synthetic microvessel grafts from allogeneic T cells in vivo // J. Immunol.— 2004.— Vol. 173, N 5.— P. 3020–3026.
16. Zhang L. et al. Bcl-2 homodimerization involves two distinct binding surfaces, a topographic arrangement that provides an effective mechanism for Bcl-2 to capture activated Bax // J. Biopl. Chem.— 2004.— Vol. 279, N 42.— P. 920–928.
17. Zhang L. et al. Bcl-2 transduction protects human endothelial cell synthetic microvessel grafts from allogeneic T cells in vivo // J. Immunol.— 2004.— Vol. 173, N 5.— P. 3020–3026.

Л.Д. Тодорико, Л.Д. Мигайлюк

Некоторые аспекты проблемы апоптоза и его место в формировании общего синдрома дизадаптации при инфильтративных заболеваниях легких

Цель работы — анализ данных, касающихся изучения интенсивности процессов апоптоза и пролиферативной активности эпителиоцитов бронхолегочной ткани, путем проведения иммуноцитохимического исследования при инфильтративных процессах в легких.

Материалы и методы. Проведено иммуноцитохимическое исследование определения антигенов Bcl-2, Bax и PCNA (ядерный антиген клеточной пролиферации) в бронхиальной ткани 17 пациентов с инфильтративными изменениями в легких воспалительного генеза различной этиологии с использованием тест-системы TACS XL™ (R&D Systems Incorporation, США).

Результаты и обсуждение. Результаты исследований позволили установить усиление апоптоза эпителиоцитов, поскольку оно сопровождается увеличением продукции проапоптотического протеина Bax на фоне дефицита синтеза антиапоптотических факторов (протеина Bcl-2). Не выявлено положительной реакции на PCNA, что свидетельствует о снижении пролиферативной активности эпителиоцитов бронхов.

Выводы. При инфильтративных изменениях в легких отмирание эпителиоцитов осуществляется за счет усиления апоптоза, который сопровождается компенсаторно увеличенной пролиферацией эпителиоцитов и усиленной продукцией проапоптотического протеина Bax, которая носит крупногранулярный характер, на фоне дефицита синтеза антиапоптотических факторов (протеина Bcl-2). Экспрессия PCNA в условиях воспаления свидетельствует о повышении репликативной активности ДНК.

L.D. Todoriko, L.D. Myhailiuk

Some aspects of apoptosis and its role in the formation of the general dysadaptation syndrome at the infiltrative pulmonary diseases

Objective: to analyse the study data on the apoptosis processes intensity and proliferative activity of the bronchopulmonary epithelial cells by means of immunocytochemical investigation at infiltrative pulmonary processes.

Materials and methods. The immunocytochemical study of Bcl-2, Bax, and PCNA (cell proliferation nuclear antigen) specific antigens in bronchial tissue was carried out in 17 patients with pulmonary infiltrative inflammatory changes of various etiologies by applying TACS XL™ test system (R & D Systems Incorporation, USA).

Results and discussion. Study results revealed epithelial cells apoptosis increase due to intensification of the pro-apoptotic protein Bax production against the deficiency of antiapoptotic factors (Bcl-2 protein) synthesis. Study revealed no positive reaction to PCNA indicating decrease of proliferative activity of the bronchial epithelial cells.

Conclusions. The lung epithelial cell dying off at infiltrative pulmonary changes is accomplished by the increased apoptosis followed by compensatory increase of epithelial cells proliferation and Bax proapoptotic protein hyperproduction of coarse-granular type against the deficiency of antiapoptotic factors (protein Bcl-2) synthesis. The PCNA expression at inflammation indicates the growth of the DNA replicative activity.

Контактна інформація:

Тодоріко Лілія Дмитрівна, д. мед. н., проф., зав. кафедри фізіотерії та пульмонології
58002, м. Чернівці, пл. Театральна, 2
Тел. (050) 660-79-59. E-mail: mutia 2@rambler. ru

Стаття надійшла до редакції 27 червня 2012 р.