

УРОВЕНЬ СПОНТАННОГО АПОПТОЗА ПРИ ТЕПЛОМ ШОКЕ У ПАЦИЕНТОВ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

Н.В. Акулич

Могилев, УО «МзГУ им. А.А. Кулешова»

При температурах, превышающих физиологический уровень, в клетках наблюдается активация синтеза молекулярных шаперонов, известных как белки теплового шока. Молекулярные шапероны обладают способностью защищать белки, утратившие нативную конформацию, при стрессорных воздействиях различного характера. Ранее нами было показано, что при тепловом стрессе уже на его 30-й минуте происходят изменения хроматина ядер лимфоцитов, а наиболее реактивным компонентом хроматина лимфоцитов периферической крови является его перигранулярная область [1].

В общем случае в результате воздействия какого-либо фактора, например, повышенной температуры, лимфоциты могут или перейти в состоянии «позитивной активации» – пролиферации, дифференцировки, клональной экспансии, формирование пула клеток иммунологической памяти, или реализовать программу апоптоза, «негативной активации». Поскольку только в случае сохранения баланса между «позитивной» и «негативной активацией» лимфоцитов, то оценка «апоптотической реактивности» может являться важным показателем функционирования иммунной системы, прогностическим, а в случае с анализом клеток при ряде заболеваний – и диагностическим критерием.

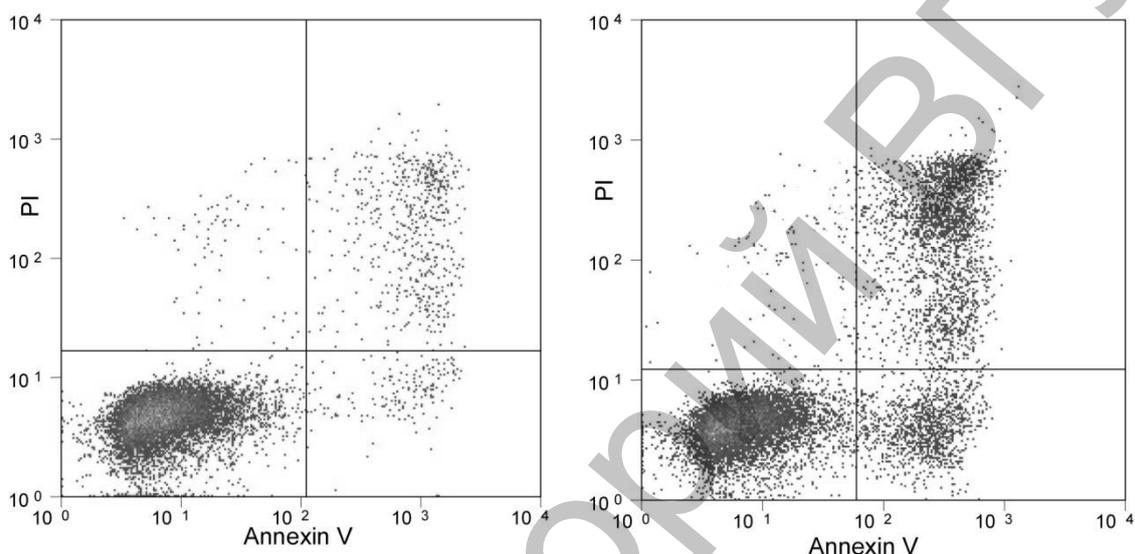
Если лимфоцитарный пул изначально активирован, то характер ответа на температурный стресс может отличаться от нормы, особенно если речь идет о хроническом заболевании, таком как атеросклероз, поскольку для него характерно воспаление и хроническая ишемия, а в центре атеросклеротических пятен происходит напряжение сдвига, и активация лимфоцитов коррелирует с реологическими нарушениями.

Таким образом, цель исследования – провести оценку спонтанного апоптоза у пациентов с атеросклерозом при моделировании теплового стресса.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследования выбраны лимфоциты периферической цельной крови 17 больных ишемической болезнью сердца (основная группа). Она рандомизирована по возрасту, полу (мужчины), диагнозу и лечению. В контрольную группу входили 17 здоровых добровольцев мужского пола. Лимфоциты выделяли при помощи метода магнитной сепарации с использованием реагентов фирмы Invitrogen (Dyna). Структурно-функциональное состояние лимфоцитов при моделировании теплового стресса [1] оценивали при помощи проточной цитофлуориметрии при их окрашивании Аннексином V и пропидиум йодидом [3] и методом морфоденситометрии [2]. Анализ осуществляли на проточном цитофлуориметре Cell Lab Quanta SC, Beckman Coulter

(США) и микроскопе проходящего света Axio Imager A1, Carl Zeiss (Германия). Статистический анализ осуществляли непараметрическими методами.

Результаты и их обсуждение. Исходное состояние хроматина лимфоцитов в основной группе имело выраженные отличия и характеризовалось ростом активности окологранулярного гетерохроматина и снижением оптической плотности эухроматина. Уровень спонтанного апоптоза в обеих группах не превышал 0,5% популяции лимфоцитов, что свидетельствует о достаточно «мягком» выделении мононуклеаров и относительно высокой жизнеспособности лимфоцитов.



Субпопуляция лимфоцитов	% от общего числа лимфоцитов
Мертвые клетки	0,72±0,26
Поздний апоптоз	5,5±1,82
Живые клетки	91,67±3,43
Ранний апоптоз	2,11±1,65

Тепловой стресс (контроль)

Субпопуляция лимфоцитов	% от общего числа лимфоцитов
Мертвые клетки	0,70±0,43
Поздний апоптоз	22,12±1,93 *
Живые клетки	65,32±3,21 *
Ранний апоптоз	11,86±1,71 *

Тепловой стресс (основная группа)

Рис. Уровень спонтанного апоптоза при тепловом стрессе (* p<0,05)

Трехчасовой тепловой стресс в опытной группе вызывал статистически достоверное увеличение числа лимфоцитов, находящихся как на ранней, так и на поздней стадии апоптоза, при сохранении количества мертвых клеток (рис.) по сравнению с 3-х часовым контролем.

Морфоденситометрический (МДМ) анализ выявил депрессию активности хроматина, что проявилось увеличением степени его конденсации, ростом площади и уменьшением количества гранул гетерохроматина и снижением

доли эухроматина. МДМ параметры ядра изменились и в контроле, и в основной группе. Площадь ядра уменьшилась, но в случае контроля эти изменения были менее выражены и находились в пределах статистической ошибки. Микроцитоз лимфоцитов сопровождался конденсацией хроматина их ядер.

Поскольку при тепловом шоке увеличивается масса белков хроматина, а распределение БТШ по длине хромосом неравномерно (предпочтительно БТШ связываются с транскрипционно активными деконденсированными участками хромосомы), то в таком случае увеличение оптической плотности ядра при тепловом стрессе связано с уменьшением доли транскрипционно-активного хроматина. Это представляет интерес не только потому, что БТШ принимают участие в восстановлении повреждений, препятствующих нормальной конденсации хромосом, но и потому, что повышенный синтез БТШ является необходимым условием реакции организма на стресс и служит защитным фактором, помогающим клетке выжить.

Заключение. Тепловой стресс вызывает увеличение уровня спонтанного апоптоза у больных атеросклерозом, но не здоровых добровольцев и изменения состояния хроматина ядер лимфоцитов как больных атеросклерозом, так и практически здоровых добровольцев. Наиболее выраженные морфологические денситометрические изменения развиваются в гетерохроматиновых областях ядра.

Таким образом, гетерохроматин лимфоцитов периферической крови в сочетании с оценкой уровня спонтанного апоптоза может использоваться как маркер ранних реакций на стрессовые воздействия при ишемических состояниях атеросклеротического генеза.

Список литературы

1. Akulich N.V. // J. Thromb. Haemost. – 2007. – Vol. 5. – P-S-495.
2. Акулич Н.В., Тепляков А.И., Прищепова Е.В. и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 1. – С. 61–62.
3. Ferlini C., Di Cesare S., Rainaldi G. et al. // Cytometry. – 1996. – 24. – P. 106-115.

АУТОРЕГУЛЯЦИЯ КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ПОСЛЕ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ, РАЗВИВАЮЩЕЙСЯ НА ФОНЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНО ПЕРЕНЕСЕННОГО СТРЕССА

Л.Е. Беляева, В.И. Шебеко¹, А.П. Солодков²

¹Витебск, УО «ВГМУ», ²Витебск, УО «ВГУ им. П.М. Машерова»

Поддержание жизненно важных функций организма при острой кровопотере зависит от сохранения на адекватном уровне коронарного кровотока и сократительной функции миокарда. Показано, что 6-часовой иммобилизационный стресс приводит к угнетению ауторегуляции, снижению тонуса коронарных сосудов и сократительной функции миокарда [1]. В то же время, сведения об особенностях нарушения тонуса коронарных сосудов в условиях кровопотери, возникающей на фоне предварительно перенесенного стресса, отсутствуют. Цель работы – изучить характер изменений ау-