

Карпунь В. О., Носова Л. І.

АПОПТОЗ ЕОЗИНОФІЛЬНИХ ГРАНУЛОЦИТІВ КІСТКОВОГО МОЗКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ РАДІАЦІЙНОГО ВПЛИВУ

Вивчення ультраструктури еозинофільних гранулоцитів кісткового мозку білих щурів за умов радіаційного впливу дозволило визначити ознаки апоптозного фенотипу цих клітин. Масова апоптична загибель еозинофілів супроводжується активацією проліферації клітин-попередників.

Апоптоз - одна з генетичних програм онтогенезу [1, 2]. Послідовність змін у клітинах при апоптозі не має особливого значення, тому що ці зміни відбуваються незалежно одна від одної, бо контролюються дискретними механізмами [3]. При спонтанному апоптозі клітина підкоряється своєму «внутрішньому годиннику». Індукований апоптоз є реакцією на екзогенний чинник, несумісний з компенсаторними механізмами клітинного гомеостазу.

У наш час проблема еозинофілії теж розглядається крізь призму клітинної загибелі внаслідок апоптозу [4]. За існуючими даними [5], деякі чинники, наприклад гранулоцито-макрофагально-колонієстимулюючий фактор (ГМ-КСФ, GM-CSF), запобігають апоптозу еозинофілів. Відома також гіпотеза [6], що пов'язує еозинофілію зі зсувом диференціювання на рівні класу поліпотентних кістковомозкових клітин в напрямку еозинофілів-базофілів. Внутрішньоклітинні механізми апоптозу еозинофілів широко не вивчалися.

Нами використано експериментальний матеріал відділу цитології та гістогенезу Інституту зоології ім. І. І. Шмальгаузена НАН України. Досліджували мазки периферичної крові та зрізи кісткового мозку зі стегон 28 статеводозрілих білих щурів Вістар/Рап (дві групи). Першу групу опромінювали на гамма-установці ІГУР-1 із джерелом ¹³⁷Cs (потужність дози 2 сГр/хв) в діапазоні малих доз (0,3 Гр). Матеріал відбирали на 1, 3 та 5-ту добу після опромінення. Друга група з 7 інтактних щурів слугувала контролем.

Найбільшу еозинофілію (1-ша доба: $1,94 \pm 0,07$ ($P < 0,001$); 3-тя доба: $5,25 \pm 0,08$ ($P < 0,001$); 5-та доба: $2,5 \pm 0,07$ ($P < 0,001$) проти $0,57 \pm 0,01$ в контролі) спостерігали на 3-тю добу після опромінення, тому електронну мікроскопію кісткового мозку проводили на цьому гістологічному матеріалі.

Мікроскопія є одним з найкращих методів скринінгу, який дозволяє виявити морфологічні зміни ядерного матеріалу в клітині, що є типовим для апоптозу.

Дослідження ультраструктури еозинофільних гранулоцитів проведено нами за допомогою електронного (трансмісійного) мікроскопа «Тесла БС-500».

Аналіз спостережень на субмікроскопічному рівні дозволив дійти висновку про наявність великої кількості апоптичних еозинофілів (рис. 1 - контроль; рис. 2,3 - дослід), що мало би зменшити вихід еозинофілів у периферичну кров. З іншого боку, постійно реєструвалися еозинофільні міелоцити з мітотичними фігурами (рис. 4, профаза). За нашими даними, на 50 еозинофільних гранулоцитів піддослідних щурів припадає максимум 10 апоптичних клітин і 3 - в стані мітозу; тоді як у контрольних тварин єдиною ознакою апоптичної загибелі еозинофілів є фрагменти їх цитоплазми у макрофагах.

Еозинофіли і в нормі, і в патології гинуть внаслідок апоптозу. Відомо [7], що апоптоз - фізіологічний феномен, протилежний мітозу в кінетиці тканинного гомеостазу, а іонізуюче опромінення є індуктором апоптозу. Однак масова апоптична загибель еозинофілів, вочевидь, стимулює проліферацію клітин-попередників. Це потверджується ще й тим, що мітотичні фігури реєструються в дочірніх міелоцитах (вони відрізняються від материнської клітини насиченістю специфічними гранулами та їх зрілістю), тобто замість 2 поділів міелоцитів (у нормі) тут відбувається їх більше, можливо до 4, за прогнозами [8].

Залежно від того, на якій стадії дозрівання еозинофіл гине, ознаки апоптичного фенотипу паличкаядерних і сегментоядерних еозинофілів дещо різняться. Оскільки основні події апоптозу відбуваються в ядрі, слід відзначити, що в сег-

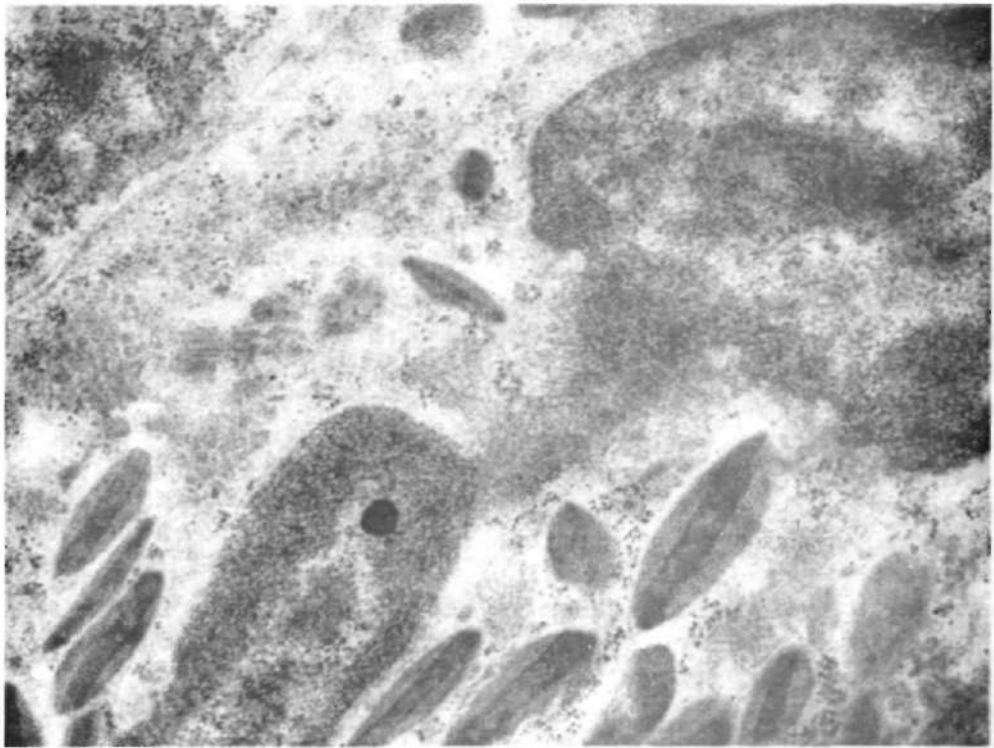


Рис. 1. Сегментоядерний еозинофіл (контроль); специфічні гранули з різною концентрацією пероксидази в кристалоїдах, дві з них – без кристалоїдів (дегрануляція). Електронна мікрофотографія (зб. 14 000×)

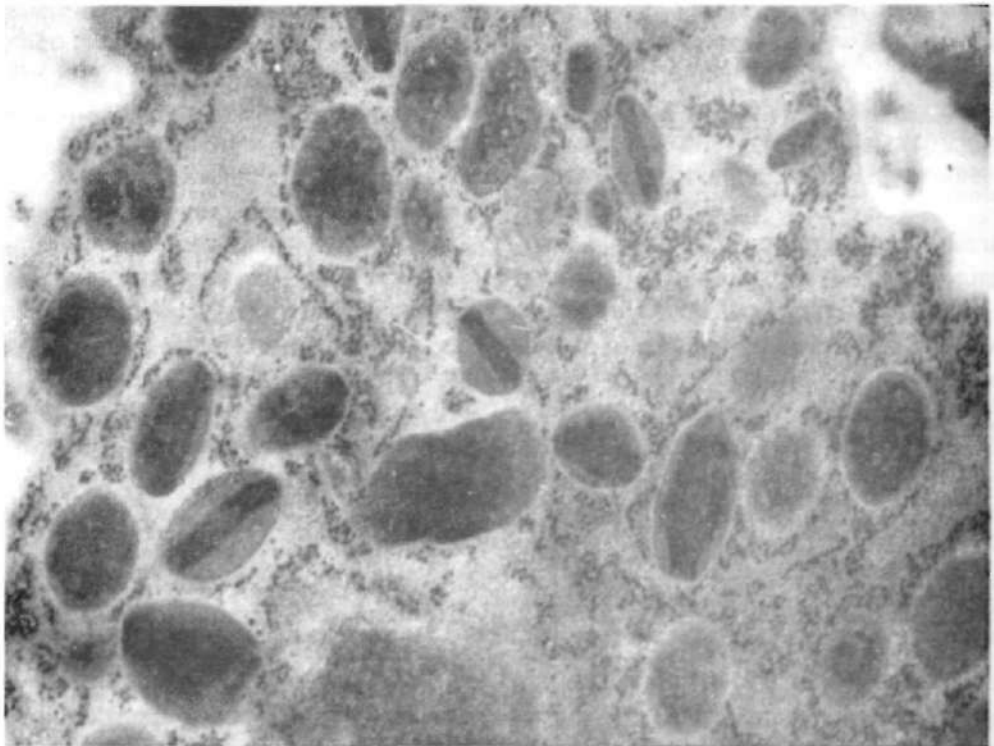


Рис. 2. Апоптоз сегментоядерного еозинофіла (дослід); два фрагменти пікнотичних ядерних сегментів (каріорексіс). Електронна мікрофотографія (зб. 10 000×)

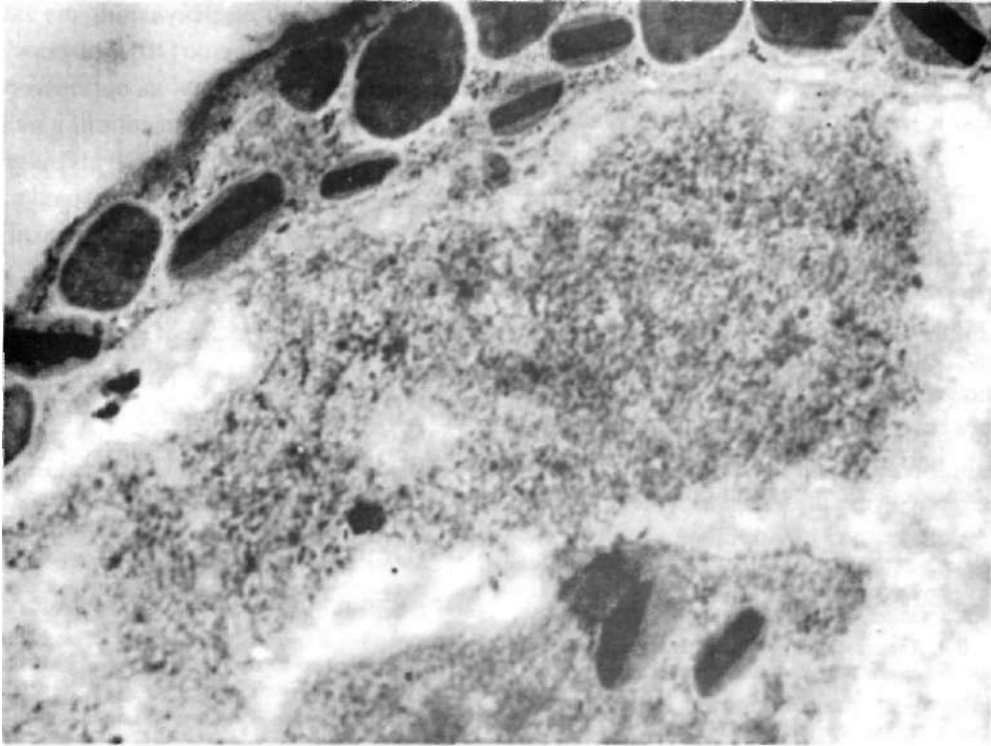


Рис. 3. Апоптоз паличкоядерного еозинофіла (дослід). Каріолізис; цитоплазма зберігає цілісність і містить специфічні гранули з кристалоїдами різних розмірів і щільності; ознаки дегрануляції. Електронна мікрофотографія (зб. 12 000х)

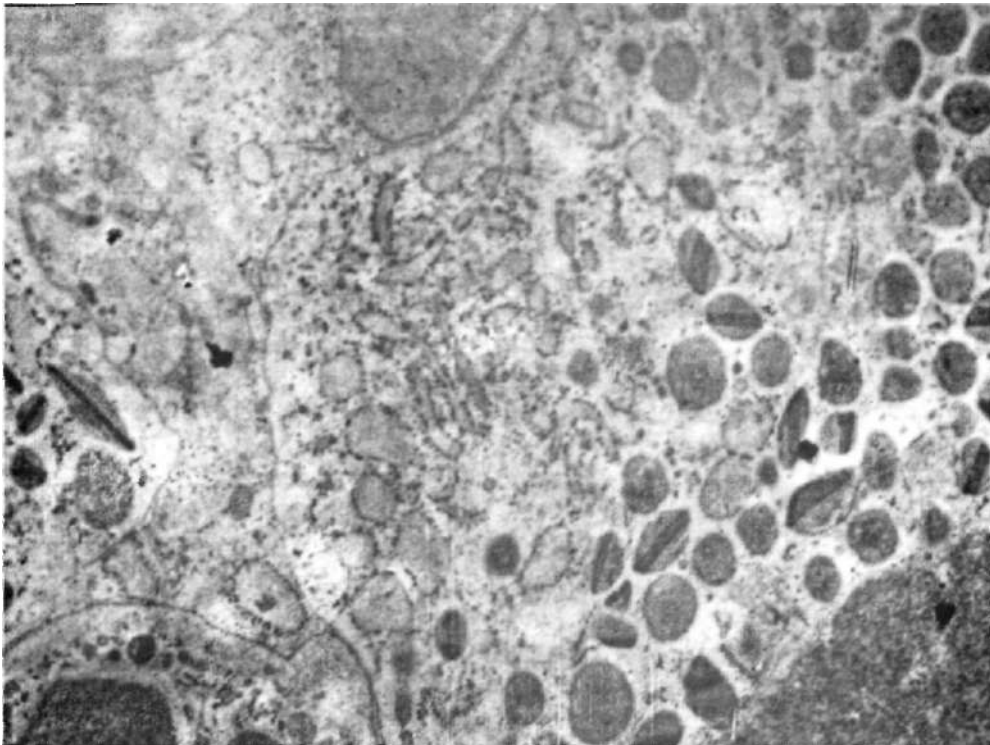


Рис. 4. Мітотична фігура (профаза) в еозинофільному дочірньому мієлоциті. Електронна мікрофотографія (зб. 8000х)

ментоядерних еозинофілах процес починається з каріопікнозу (агрегація хроматину) з наступним розщепленням ядра (каріорексис) на фрагменти (див. рис. 2). Під час апоптозу паличкоядерних еозинофілів відбувається поступовий каріолізіс ядра (див. рис. 3), при цьому залишаються тільки контури ядра. Натомість в обох випадках зберігається цілісність цитоплазми, чітко ідентифікуються неушкоджені органели і специфічні гранули еозинофілів з кристалоїдами в середині; деякі з них - вільні від кристалоїдів. Встановлено [9], що наявність осмієфільних кристалоїдів пов'язана з еозинофілпероксидазою в критичних величинах, клітини секретують її назовні, а поступове освітлення серцевини специфічних гра-

нул свідчить про дегрануляцію, що зазвичай супроводжує еозинофілію [10]. Зважаючи на те, що при радіаційному впливі на організм ссавців виникає дефіцит мієлопероксидази в нейтрофілах, а еозинофілпероксидаза не ушкоджується, вивільнення вмісту специфічних гранул еозинофілів є доречним, бо нейтрофіли здатні її запозичувати [11, 12].

Таким чином, у кістковому мозку опромієних малими дозами радіації білих щурів спостерігається масова апоптична загибель еозинофілів на тлі еозинофілії в периферичній крові, що можна пояснити стимуляцією проліферативної активності клітин-попередників.

1. Kerr J. F. R., Wyllie A. H., Currie A. R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide range implication in lissuc kinetics // Brit. J. Cancer.- 1972.- V. 26.- N 4.- P. 239-257.
2. Ярилин А. А. Апоптоз. Природа феномена и его роль в целостном организме // Пат. физиология и эксп. терапия.- 1998. - № 2. - С.38-48.
3. Маянский А. Н., Маянский Н. А., Заславская М. И., Позднеев Н. М., Плещкова С. Н. Апоптоз нейтрофилов // Иммунология.- 1999.- № 6.- С. 11-20.
4. Минеев В. Н., Иванова В. В., Нестерович И. И. Костный мозг и эффекторные клетки воспаления при аллергии // Аллергология.- 2000.- № 2.- С. 27-35.
5. Simon H U., Blazer K. Inhibition of programmed eosinophil death a key pathogenic event for eosinophilia? // Immunol. Today. - 1995. - V. 16. - P. 53-55.
6. Denburg J. A., Inman M. D., Leber B. et. al. The role of the bone marrow in allergy and asthma // Allergy.- 1996.- V. 51.- N 3.- P. 141-148.
7. Власов П. А., Квачева Ю. Е. Апоптоз гемопоэтических клеток костного мозга людей с острой лучевой болезнью // Гематол. и трансфуз.- 1997.- Т. 42. - № 6.- С. 30-32.
8. Кинетика форменных элементов крови / Мосягина Е. Н., Владимирская Е. Б., Торубарова Н. А., Мызина Н. В.- М.: Медицина, 1976. - С. 123-143.
9. Sadaki Y., Hiroshi T., Keitano K. Localization of lysosomal and peroxisomal enzymes in the specific granules of rat interstinal eosinophil leukocytes revealed by immunoclectron microscopic techniques // J. Histochem. and Cytochem.- 1984.- V. 32.- N 3. - P. 267-274.
10. Sorice F., Simone C. Human eosinophil heterogeneity // Ric. Clin. end. lab.- 1986.- V. 16.- N 3.- P. 429-434.
11. Бережная Н. М. Нейтрофилы и иммунологический гомеостаз.- К.: Наук. думка, 1988.- 190 с.
12. Панченко Н. А., Носова Л. И., Фалимонов И. С., Гарбузов И. И., Власенко А. И., Лобода Е. И. Гетерофильные гранулоциты крыс при облучении // Цитология и генетика.- 1992. - Т. 26. - № 2.- С. 21-24.

V. O. Karpun, L. I. Nosova

АПОПТОСИС ОФ ЕОСІНОФІЛ ГРАНУЛОЦЫТЕС ОФ БОНЕ МАРРОУ ОФ РАТС АФТЕР ІРРАДІАТІОН

Eosinophil granulocytes of bone marrow of rats by electron microscopy after irradiation were investigated. Cell death by apoptosis may be a stimulus of proliferative activity of cells-precursors.