

УДК: 577.213.38.576.367.591.179

© Попов Е.М., 2011

БІОХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА АПОПТОЗУ Й ПРОЛІФЕРАЦІЇ В ШКІРІ, ЕКСПРЕСІЇ ПРОМОТОРА АПОПТОЗУ ГЕНА P53 І АНТИАПОПТОЗНОГО ГЕНА BCL-2**Попов Е.М.***ДУ «Луганський державний медичний університет»*

Шкіра, найбільший орган тіла, стратегічно розміщена як бар'єр між зовнішніми і внутрішніми середовищами, постійно підлягає таким шкідливим стресорним впливам, як радіація, сонячний або тепловий шок, механічне, хімічне або біологічне ушкодження.

Через її функціональні особливості і структурне різноманіття шкіра повинна мати адаптаційні механізми до стресорних чинників. І хоча клітинно-тканинне ушкодження у шкірі локальне, але воно є тригерним механізмом системної реакції. Адаптаційний механізм захисту в шкірних покривах повинен мати здатність сприйняття стресу досить високої чутливості через відносно низьку інтенсивність безперервного плейотропного впливу фізико-хімічних і біологічних чинників, що ушкоджують шкіру.

Мета дослідження: Дослідити генетичні маркери апоптозу (p53, bcl-2) і антиген ядер проліферуючих клітин (PCNA) у неушкоджених ділянках шкіри і в областях проведення мікроін'єкцій досліджуваних препаратів на ранніх термінах розвитку місцевої запальної реакції.

Матеріали й методи дослідження. При виконанні роботи були поставлені експерименти на білих щурах, самцях 16-ти тижневого віку масою 200 – 300 грамів, які були розподілені на такі групи:

1. Контрольна група: тварини, яким внутрішньодермально було введено фізіологічний розчин.

2. Тварини, яким внутрішньодермально було введено нікотинову кислоту (НК).

3. Тварини, яким внутрішньодермально було введено Кутіс Композитум (КК).

В експериментальній роботі використовували препарати прозапальної й протизапальної дії. Дослідження проводили на 9-у добу моделювання запальної реакції в шкірі. Обрані нами терміни дослідження були обумовлені процесом нормальної регенерації тканин після модельованого асептичного внутрішньошкірного запалення.

Результати дослідження. Як показали наші дослідження, при введенні фізіологічного розчину в епідерміс шкіри щурів експресія промотора апоптозу p53 була мінімальною, про що свідчить низький ступінь вияву імунопозитивної реакції.

На думку деяких авторів, у нормальних клітинах білка p53 міститься мало – на рівні

чутливості методів визначення. Напівперіод життя цього білка складає приблизно 5 – 20 хвилин, p53 постійно оновлюється шляхом синтезу. Інші автори підтверджують, що у фізіологічних умовах «дикий тип» (wt)p53, що характеризується коротким періодом напіврозпаду (не більше 20 хвилин), міститься в клітинах в дуже низьких концентраціях, що зазвичай нижче за чутливість імуногістохімічних методів. При введенні щурам нікотинової кислоти кількість p53-позитивних клітин становила $46,6 \pm 6,8 \%$, а в групі введення Кутіс Композитум – $28,4 \pm 5,3 \%$, що корелює з рівнем ДНК-фрагментації в цих групах і свідчить про активацію апоптозу в кератиноцитах епідермісу при запальній реакції шляхом оверекспресії промотора апоптозу – білка p53.

Процес регульованої клітинної загибелі умовно може бути поділений на декілька різних фаз: фаза ініціації апоптозу, проведення сигналу, активація каспаз, активація ендонуклеаз і специфічна деградація ДНК, унаслідок чого відбувається загибель клітини.

Якщо початкові фази розрізняються залежно від типу клітин і від апоптоз-індукуючого сигналу, то етап деградації ДНК – універсальний для більшості клітин. Ця фаза є переходом до незворотної – термінальної стадії апоптозу, яку контролюють білки родини Bcl-2, похідні однокласних генів. У зв'язку з цим, з'ясування ролі білків родини Bcl-2 займає центральне місце у вивченні регуляції процесу апоптозу. До сьогодні відомо, що білки цієї родини відносяться або до індукторів апоптозу (Bad, Bax, Bcl-Xs, Bik, Bid, Bak), або до інгібіторів (Bcl-2, BCL-XL). Білки родини Bcl-2 перебувають у постійній динамічній рівновазі, утворюючи гомо- і гетеродимери, що зрештою впливає на розвиток апоптозу клітин. Тому вважається, що співвідношення активних форм цих білків визначає реостат життя і смерті клітини. Механізм регуляції цього процесу доцільно розглядати з позиції структурно-функціональних взаємин між білками цієї родини, які дозволяють об'єднати їх в одну родину – білків родини Bcl-2.

За нашими даними, експресія bcl-2 в кератиноцитах епідермісу була максимальною в групі введення фізіологічного розчину, при введенні нікотинової кислоти і КК імунопозитивність bcl-2 була виражена слабкіше.

При оцінці іншими дослідниками процесу експресії білка bcl-2 в шкірі встановлено, що імунопозитивна реакція кератиноцитів до антитіл білка визначається частіше в цитоплазмі клітин базального шару епідермісу.

Експресія bcl-2 в базальних кератиноцитах повинна забезпечувати виживання активно проліферуючих клітин. Чи так це відбувається при запальній реакції, ми визначили на експресії антигена ядер проліферуючих клітин (PCNA) у клітинах шкіри в нормі й при запаленні.

Уведення нікотинової кислоти в епідерміс шурів стимулює процеси проліферації, експресія PCNA була максимальною в цій

групі дослідження, тоді як експресія bcl-2 при цьому була пригнічена високою експресією p53.

Описані особливості експресії bcl-2 свідчать про переважне підвищення резистентності до проапоптотичних сигналів менш диференційованих клітин епідермісу.

Висновки: Багаторазові внутрішньошкірні ін'єкції нікотинової кислоти, призводячи до переважання альтеративного й ексудативного компонентів місцевої запальної реакції, яка персистує протягом усього періоду спостережень, які ведуть до збільшень показників p53 і bcl-2 в тканині шкіри, що свідчить про активацію апоптозу.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Rao L., Whit E. Bcl-2 and the ICE family of apoptosis regulators: making a connection. // Curr open genet Dev. 1997; 7(1): 52-58.
2. Westendorp M.O., Frank R., Ochsenbauer C, Stricker K, Dhein J, Walczak H., Debatin K.M., Krammer P.H. Sensitization of T cells to CD95-

mediated apoptosis by HIV-1 Tat and gp 120. // Nature. 1995; 375(6531): 497-500.

3. Петряева М.А. Репаративная регенерация кожи после травмы, нанесённой в разное время суток, и при воздействии лизил-пролином. // Автореферат на соиск. Уч.ст. к.м.н. 1992, С.17.

Попов Е.М. Біохімічна характеристика апоптозу й проліферації в шкірі, експресії промотора апоптозу гена p53 і антиапоптозного гена bcl-2 // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 5. – С. 157-158.

В проведеному дослідженні доказано, що експресія bcl-2 в базальних кератиноцитах повинна забезпечувати виживання активно проліферуючих клітин. Чи так це відбувається при запальній реакції, ми визначили на експресії антигена ядер проліферуючих клітин (PCNA) у клітинах шкіри в нормі й при запаленні.

Ключові слова: апоптоз, проліферація, запальні реакції, експресія

Попов Е.М. Биохимическая характеристика апоптоза и пролиферации в коже, экспрессия промотора апоптоза гена p 53 и антиапоптозного гена Bcl-2 // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 5. – С. 157-158.

В проведенном исследовании доказано, что экспрессия bcl - 2 в базальном кератиноците должно обеспечивать выживание активно пролиферирующих клеток. Так ли это происходит при зажигательной реакции, мы определили на экспрессии антигена ядер пролиферирующих клеток (PCNA) в клетках кожи в норме и при воспалении.

Ключевые слова: апоптоз, пролиферация, воспалительные реакции, экспрессия

Popov E.N. Biochemical description of apoptosis and пролиферации is in a skin, expression of промотора of apoptosis of gene of p 53 and антиапоптозного gene of Bcl - 2 // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, № 5. – С. 157-158.

In the conducted research of доказано, that expression of bcl - 2 in basale keratinocytes must provide a survival actively of proliferating cages. How so it takes place at the used for setting fire reaction, we defined on expression of antigen of kernels of проліферуючих cages (PCNA) in the cages of skin in a norm and at inflammation.

Keywords: apoptosis, пролиферация, inflammatory reactions, expression

Надійшла 21.06.2011 р.
Рецензент: проф. І.О.Комарецька