

УДК 612.419.091.9+611.018.52

*М.Е. Кузнецов, Е.Л. Куренков, Ю.М. Захаров***ПРОЯВЛЕНИЯ АПОПТОЗА В ЭРИТРОКАРИОЦИТАХ
ЭРИТРОБЛАСТИЧЕСКИХ ОСТРОВКОВ КОСТНОГО МОЗГА КРЫС**

Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск, Российская Федерация

*M.E. Kuznetsov, E.L. Kurenkov, Yu.M. Zakharov***DEMONSTRATION OF APOPTOSIS IN ERYTHROBLASTIC ISLANDS
ERYTHROKARIOCYTES OF RATS BONE MARROW**

South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russian Federation

Резюме. В работе впервые изучено состояние функциональной активности белков bcl-2 и p53 в эритрокариоцитах эритробластических островков (ЭО) разных классов зрелости костного мозга у интактных и после острой кровопотери крыс. У интактных крыс процентное содержание bcl-2+ эритрокариоцитов было наибольшим в ЭО 2 по сравнению с ЭО 1 и ЭО инволюционирующих, а также статистически значимо меньшим в ЭО инволюционирующих по сравнению ЭО 1 и ЭО 2. Процентное же содержание p53+ эритрокариоцитов у интактных крыс в ЭО 2 класса было статистически значимо меньше, чем в ЭО 1 класса и ЭО инволюционирующих, а также практически одинаково между собой в ЭО 1, ЭО 3, ЭО инволюционирующих и ЭО реконструирующихся. Через 48 часов после кровопотери содержание bcl-2+ эритрокариоцитов в ЭО возрастало в ЭО 1, ЭО 2 и реконструирующихся ЭО.

Ключевые слова: эритробластические островки, эритрокариоциты, маркеры апоптозной активности bcl-2, p53

Abstract. The functional activity of bcl-2 and p53 proteins in erythrocytes of erythroblastic islands (EI) of various classes of bone marrow belonging to intact rats and animals following an acute blood loss were investigated. It is observed that intact rats had the elevated levels of percent content of bcl-2+ erythrocytes in EI of the second maturity class, compared to EI of first maturity class and EI involutionary class, and also less in the EI involutionary class compared to EI 1 and EI 2. Percentage content of p53+ erythrocytes in intact rats in the EI 2 class was less than in EI 1 and EI involutionary class, and were nearly the same of EI 1, EI 3, EI involutionary class and EI reconstructed. 48 hours after blood loss, the content of bcl-2+ erythrocytes were increased in EI 1, EI 2, and EI reconstructed.

Keywords: erythroblastic islands, erythrocytes, bcl-2, p53 apoptotic activity markers

Введение

Структурно-функциональной единицей эритропоэза является эритробластический островок (ЭО), который представляет собой многоклеточное образование, состоящие из «короны» эритроидных клеток, окружающих центрально расположенный макрофаг [1, 2]. Специально проведенные исследования позволили разделить ЭО на 5 классов зрелости на основании «волн» амплификации клеток — 1:2:4:8:16:32, — начинающихся от колониеобразующей единицы эритроцитарной (КОЕэ), адгезировавшей к макрофагу будущего ЭО. ЭО 1 класса зрелости представлены проэритробластами, эритробластами или базофильными нормобластами (число удвоения клеток 1:2:4:8); ЭО 2 — базофильными или ранними полихроматофильными нормобластами, следствие удвоения 8:16; ЭО 3 — средними полихроматофильными нормобластами и неспособными к делению, поздними полихроматофильными и оксифильными нормобластами (удвоение 16:32); ЭО инволюционирующие (ЭО инв.) с «коронай» из поздних полихроматофильных и оксифильных нормобластов с числом клеток, меньшим 16. В «короне» ЭО 3 и, в основном, в ЭО

инв. происходит денуклеация нормобластов и образование ретикулоцитов. ЭО реконструирующиеся (ЭО рек.) формируются после присоединения к ЭО инв. новой КОЕэ или проэритробласта, поэтому в их «короне» представлены как зрелые эритроидные клетки, так и ранние эритроидные [1]. В процессе эритропоэза как частного проявления клеточного обновления ткани, неизбежно происходит появление генетически неполноценных, мутировавших эритроидных клеток. В физиологических условиях такие клетки подвергаются апоптозу, что обеспечивает поддержание генетической стабильности, функциональной полноценности и фенотипической однородности клеточной популяции.

Апоптоз начинается с формирования апоптотических сигналов и запуска эффекторных механизмов, ключевое звено этого процесса обеспечивает семейство белков bcl-2 (B-cell lymphoma-2), содержащее группы протеинов с проапоптотической и антиапоптотической активностью [3]. Мощным фактором, блокирующим апоптоз в любую фазу клеточного цикла, является собственно белок bcl-2, он предупреждает выход из митохондрий апоптоз-индуцирующего факто-

ра Aif, ионов кальция и подавляет активность апоптосом (комплекс апоптотического протеазоактивирующего фактора АРАФ-1, цитохрома С, каспазы 9 и АТФ). Белок p53, напротив, представляет собой «страж генома» и при необходимости запускает апоптоз в клетке посредством активации проапоптотических белков семейства bcl-2 (Bax или Bid), а также апоптотического протеазоактивирующего фактора АРАФ-1 [4]. В качестве современного, специфического и простого в исполнении метода выявления белков-регуляторов апоптоза используется их иммуногистохимическая идентификация [5, 6, 7].

В настоящее время известно, что апоптоз является важной составляющей нормального и стимулированного эритропоэза, который регулируется эритропоэтином [8, 9, 10]. Уровень эритропоэтина в плазме крови крыс после острой кровопотери наиболее высок на 12–24 часа и остается еще в течение нескольких суток достоверно превышающим исходный уровень [11, 12]. При этом на 48 час после стимуляции эритропоэтином эритропоэза в ЭО активируется продукция эндогенного эритропоэтина, сочетающаяся с секрецией эритробластами и макрофагами островков «К-витаминзависимого белка Gas 6» [13], так же, как и эритропоэтин, усиливающего пролиферацию и дифференциацию эритробластов, снижающего их апоптоз [14]. Однако апоптотическая активность в эритроидных клетках ЭО разных классов зрелости, выполняющих разные функциональные задачи (пролиферация и дифференциация — в ЭО1–ЭО3, созревание и денуклеация нормобластов — в ЭО инв.), нуждается в специальном исследовании.

Цель данного исследования — определение процентного содержания эритрокариоцитов положительных на белки bcl-2 и p53 в ЭО разных классов зрелости у интактных крыс и при стимуляции эритропоэза на 2 сутки после острой 2% кровопотери, характеризующейся высоким уровнем эритропоэтина в крови [1, 15], активирующим также продукцию эндогенного эритропоэтина в ЭО костного мозга [14].

Методы исследования

Работа выполнена на 12 беспородных крысах самцах массой 100–150 г., из них было 6 интактных крыс и 6 крыс после острой кровопотери. Забор крови в объеме 2% от массы тела осуществляли из хвостовых вен. Контроль эффективности моделирования кровопотери осуществляли по показателю гематокрита и содержанию ретикулоцитов в периферической крови животных. Исследование маркеров апоптоза проводили у интактных животных и крыс на 2 сутки кровопотери на фоне интенсивной пролиферации эритроидных клеток ЭО [1]. Эксперименты проведены в соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и дру-

гих научных целей, принятой в 1985 г. в Страсбурге. Все болезненные манипуляции проводили под эфирным наркозом. Эвтаназию крыс осуществляли путем цервикальной дислокации, также проводимой под эфирным наркозом. ЭО костного мозга выделяли из бедренных костей крыс по методу [16], являющегося модификацией приемов, предложенных L. Charpentier и M. Prenant (1975) [17], с помощью среды выделения, содержащей среду 199, альбумин, гепарин, пенициллин и стрептомицин. Препараты ЭО приготавливали путем адгезии взвеси клеток костного мозга, полученной из двух бедренных костей крысы, в течение 30 минут на дне 2-х чашек Петри в атмосфере термостата при 37°C и 100% влажности. Затем отмывали средой выделения чашки Петри с ЭО от неадгезированных к их поверхности клеток и фиксировали препараты [1]. От каждой крысы для выявления белков bcl-2 и p53 использовали отдельно по одной чашке Петри, что соответствовало содержанию в каждой из них ЭО, полученных из одной бедренной кости. Иммуногистохимическую идентификацию протеинов bcl-2 и p53 проводили стрептовидин-биотинпероксидазным методом с диаминобензидиновой системой визуализации [7], используя моноклональные антитела, реактивы и рекомендации фирмы Novocastra. Для контроля специфичности окрашивания в нескольких препаратах вместо первичных антител добавляли трис-буфер. Наличие маркеров апоптоза в препаратах проявлялось в виде темно-коричневых включений в цитоплазме (bcl-2) или ядре (p53) эритрокариоцитов эритробластических островков, такие клетки называли соответственно bcl-2 — положительными, проявляющими антиапоптотическую активность, или p53 — положительными, проявляющими проапоптотическую активность. В препаратах без добавления первичных антител темно-коричневые включения не наблюдались. Для дифференцирования клеток в «коронах» ЭО и разделения ЭО на 5 классов зрелости [1] кратковременно докрашивали препараты гематоксилином. В 12 чашках Петри с островками от каждой группы животных оценивали по 200–500 эритрокариоцитов ЭО каждого класса зрелости (т.е. от 1200 до 3000 эритрокариоцитов в каждой группе сравнения), что связано с разным соотношением различных классов зрелости ЭО в костном мозге [1]. В каждом препарате подсчитывали процентное содержание положительно маркированных клеток («bcl-2+» или «p53+») в короне ЭО разных классов зрелости. Полученные данные подвергали стандартным статистическим методам исследования с помощью программы Statistica 6,0. Небольшой объем выборок не позволял убедиться в нормальном характере распределения вариантов, поэтому данные представлены в виде медианы, а статистическую значимость различий выборок ($p < 0,05$ и $p < 0,01$) определяли с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни, при множественном сравнении вводили поправку Бонферрони.

Результаты исследования

У интактных крыс по мере созревания эритроидных клеток в ЭО, происходило статистически значимое увеличение антиапоптозной активности, выраженной в процентном содержании bcl-2+ эритрокариоцитов, от ЭО 1 класса к ЭО 2 класса зрелости. Затем наблюдалось последовательное снижение процента bcl-2+ клеток от ЭО 2 класса к ЭО 3 класса (статистически незначимое) и статистически значимое — к ЭО инв. Дальнейшее развитие ЭО инв. в ЭО рек. не приводило к статистически значимому изменению процента bcl-2+ эритрокариоцитов в ЭО рек., не имевшего также статистически значимого отличия и от соответствующего показателя ЭО 1 класса (рис. 1).

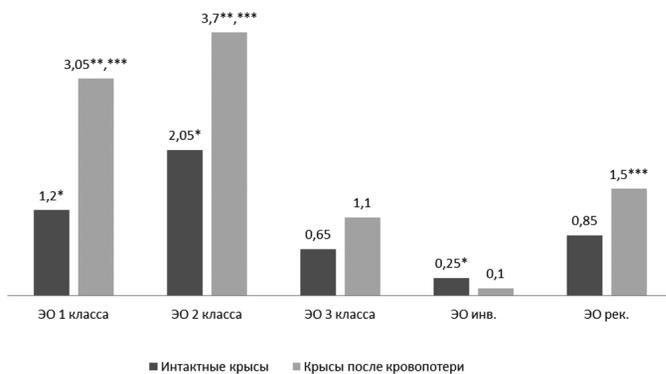


Рис. 1. Процентное содержание bcl-2 положительных эритроидных клеток ЭО (эритробластических островков) разных классов зрелости у интактных крыс и после острой кровопотери

Fig. 1. The percentage of bcl-2-positive erythroid cells EI (erythroblastic islands) of various classes of intact rats and animals following an acute blood loss.

* — статистическая значимость $p < 0,05$ при сравнении между собой показателей ЭО 1 класса зрелости, ЭО 2 класса и ЭО инв. у интактных крыс;

** — статистическая значимость $p < 0,05$ по сравнению с показателями ЭО 3 класса зрелости и ЭО инв. у крыс после кровопотери;

*** — статистическая значимость $p < 0,05$ при сравнении показателей ЭО одинакового класса зрелости у интактных крыс и крыс после кровопотери.

У интактных крыс, в процессе созревания ЭО, проапоптозная активность, выраженная в процентном содержании p53+ эритрокариоцитов, статистически значимо снижалась от ЭО 1 класса к ЭО 2 класса зрелости. Затем происходило последовательное увеличение экспрессии белка p53 в эритрокариоцитах ЭО 3 класса зрелости (статистически незначимо) и в ЭО инв., статистически значимо превышающее уровень таковой экспрессии в ЭО 2 класса. После пикового значения проапоптозной активности в ЭО инв., происходило возвращение процента p53+ эритроидных клеток в ЭО рек. к уровню, статистически не отличающемуся от соответствующего показателя ЭО 1 класса зрелости ($p > 0,05$) (рис. 2).

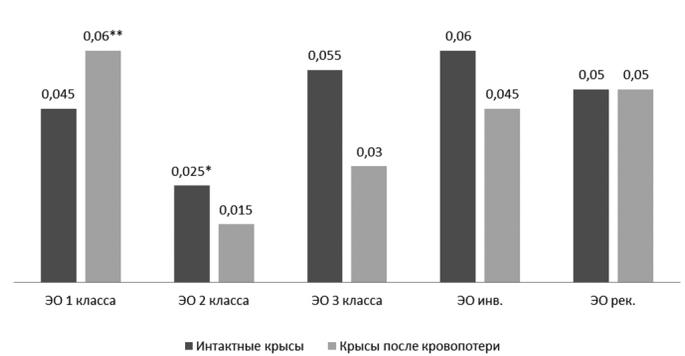


Рис 2. Процентное содержание p53 положительных эритроидных клеток ЭО (эритробластических островков) разных классов зрелости у интактных крыс и после кровопотери

Fig. 2. The percentage of p53-positive erythroid cells EI (erythroblastic islands) of various classes of intact rats and animals following an acute blood loss.

* — статистическая значимость $p < 0,05$ по сравнению с показателями ЭО 1 класса зрелости и ЭО инв. у интактных крыс;

** — статистическая значимость по сравнению с показателями ЭО 2 класса зрелости ($p < 0,01$) и ЭО 3 класса зрелости ($p < 0,05$) у крыс после кровопотери.

Острая кровопотеря приводила к статистически значимому увеличению содержания ЭО 1, 2, 3 и ЭО рек. в кроветворной ткани бедренных костей крыс, то есть ЭО с пролиферирующей эритроидной «коронай», по сравнению с интактными животными, что хорошо совпадает с прежними наблюдениями [1, 18]. Содержание bcl-2+ эритрокариоцитов в ЭО 1 класса зрелости увеличилось более чем в 2,5 раза, в ЭО 2 класса — в 1,7 раза, статистически незначимо возрастало в ЭО 3 класса зрелости, статистически незначимо снижалось в ЭО инв. по сравнению с аналогичными показателями интактных крыс. Также как у интактных животных, после кровопотери реконструкция эритропоэза приводила к усилению экспрессии белка bcl-2 в эритрокариоцитах ЭО рек. по сравнению с ЭО инв., причем после кровопотери этот показатель статистически значимо превышал процент bcl-2+ эритрокариоцитов у интактных крыс. Процентное содержание p53+ эритрокариоцитов после кровопотери в ЭО 1 было достоверно выше, чем в ЭО 2 и ЭО 3. В ЭО инв. и ЭО рек. данный показатель после кровопотери статистически незначимо отличался от значения в ЭО 1, а также соответствующих уровней содержания p53+ эритрокариоцитов у интактных крыс.

Обсуждение результатов

Результаты исследования показывают преимущественно однотипный характер распределения эритрокариоцитов по содержанию bcl-2+ и p53+ клеток в ЭО разных классов зрелости у интактных животных и крыс после острой кровопотери. При этом имеет место многократное преобладание процентно-

го содержания bcl-2+ эритроидных клеток по сравнению с содержанием p53+ клеток в островках всех классов зрелости в обеих группах животных.

Особо выраженное различие в проценте bcl-2+ клеток относительно процента p53+ клеток было отмечено в «коронах» островков пролиферирующих классов у интактных крыс и животных после кровопотери. Так, если у интактных крыс процентное содержание bcl-2+ клеток в ЭО 1 и 2 классов зрелости были выше по сравнению с процентом p53+ клеток в 26,7 и 82 раза соответственно, то после кровопотери соотношение bcl-2+ к p53+ клеткам увеличилось до 50,8 раз в ЭО 1 класса и до 246,7 раз в ЭО 2 класса зрелости. В островках с «коронай» из зрелых эритрокариоцитов — ЭО 3 класса зрелости и ЭО инв. — это соотношение резко уменьшается в обеих группах животных. У интактных крыс процентное содержание bcl-2+ клеток относительно p53+ клеток было выше в ЭО 3 класса зрелости в 11,8 раз, а в ЭО инв. — в 4,2 раза. После кровопотери это соотношение bcl-2+/p53+ клеток составляло 36,7 в ЭО 3 класса зрелости и 2,2 в ЭО инв. При реконструкции эритропоэза отношение процента bcl-2+ к процентному содержанию p53+ эритрокариоцитов у интактных крыс составляло 17, а после острой кровопотери это значение увеличивалось до 30. Таким образом, вектор направленности изменений соотношения bcl-2+ к p53+ клеткам указывает на усиление антиапоптозной активности в эритрокариоцитах ЭО пролиферирующих классов. В соответствии с ранее установленными данными [1] это объясняется достаточным содержанием эритропоэтина в крови интактных крыс и резким увеличением содержания эритропоэтина в крови животных в первые 48 часов после кровопотери. Снижение антиапоптозной активности в ЭО инв., на наш взгляд, связано с включением энергозависимых механизмов денуклеации поздних полихроматофильных и преимущественно оксифильных нормобластов [19, 20], активируемой ДНКазой II центральных макрофагов ЭО [21]. На существование таких механизмов указывает возможность денуклеации при стрессе эритропоэза [22] не только нормобластов, но и способных к делению эритробластов [1]. Уменьшение антиапоптозной активности клеток в ЭО с «коронай» из созревающих нормобластов указывает скорее всего на то, что риску апоптоза подвергаются клетки, не подпадающие под механизм денуклеации нормобластов. Возможно, это характеризует известный в гематологии феномен неэффективного эритропоэза, результатом которого становится гемолиз эритрокариоцитов, предотвращающий поступление в кровотоки неполноценных эритроцитов [23]. В то же время, установлено участие белка p53 в процессах денуклеации эритроидных клеток ЭО [21]. Поэтому нельзя исключить, что увеличение содержания p53 положительных клеток в ЭО инв. отчасти обуславливается не только проявлением собственно апоптоза, но и проявлением денуклеации этих клеток.

Мы полагаем, что полученные данные свидетельствуют о повышении антиапоптозной активности клеток, способствующей предотвращению потери эритрокариоцитов путем апоптоза и максимально быстрому восполнению дефицита эритроцитов после острой кровопотери. Известно, что эритропоэтин, уровень которого повышается при кровопотере [1], обладает выраженным антиапоптозным действием. Эритропоэтин через активацию пути фосфоинозитол-3-киназа-Akt увеличивает переживание эритроидных клеток, тормозя активацию p53 [21]. Отсутствие эритропоэтина в колонии эритроидных предшественников приводит к характерной для апоптоза интернуклеосомальной фрагментации ДНК, а при добавлении эритропоэтина клетки-предшественницы выживают и дифференцируются в ретикулоциты [9, 24]. На стадии созревания эритроидных клеток эритропоэтин увеличивает продукцию эритроцитов путем подавления апоптоза эритроидных клеток-предшественниц за счет повышения уровня антиапоптотического протеина Bcl-X(L), входящего в семейство белков bcl-2 и препятствующего реализации эффектов проапоптозных белков данного семейства, таких как Bid и Bax [8, 24, 25].

Ранее, с помощью статмокинетических исследований клеток эритроидной «короны» ЭО, было продемонстрировано, что активность пролиферации эритрокариоцитов ЭО после кровопотери к 48 часу максимально выражена в ЭО 1 класса и реконструирующихся, повышена против нормы в ЭО 2 и 3 классов зрелости [1]. Выявленная нами статистическая значимость различий антиапоптозной активности среди эритроидных клеток данных классов ЭО сочетается с высокой интенсивностью пролиферации в них эритрокариоцитов, синхронизированной с ростом интенсивности рибонуклеарного синтеза в макрофагах и эритрокариоцитах островков [26, 27, 28, 29, 30]. Повышение же антиапоптозной активности эритрокариоцитов за счет увеличения содержания в них антиапоптозного белка bcl-2, является одним из внутриклеточных механизмов, повышающих объем продукции эритроцитов при кровопотере.

Таким образом, с помощью иммуногистохимических исследований впервые проведено определение процентного содержания bcl+ и p53+ в эритрокариоцитах ЭО разных классов зрелости у интактных крыс и выявлено, что острая кровопотеря к 48 часу после ее воспроизведения, протекающая на «фоне» повышенного воспроизводства эритропоэтина почками, а в костном мозге — эритробластическими островками [15], приводит к повышению процентного содержания bcl-2+ эритрокариоцитов ЭО 1, 2 классов зрелости и реконструирующихся ЭО костного мозга крыс и одновременному сохранению экспрессии p53+ в эритрокариоцитах всех 5 классов ЭО на уровне, характерном для интактных крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Захаров Ю. М., Рассохин А.Г. Эритробластический островок. М. Медицина. 2002. 280 с.
2. Bessis M., Breton-Gorius J. Granules ferrugineux observes au microscope electronique dans les cellules de la moelle osseuse et dans les sidârocytes. C. R. Acad. Sci. 243: 1235 - 1237. 1956.
3. Puthalakath H., Huang D., O'Reily L. The proapoptotic activity of the Bcl-2 family member Bim. Mol. Cell. 3: 287–296. 1999.
4. Владимирская Е.Б. Механизмы апоптотической смерти клеток. Гематология и трансфузиология. 47 (2). pp. 35–40. 2002.
5. Зурочка А.В., Хайдуков С.В., Кудрявцев И.В., Черешнев В.А. Проточная цитометрия в медицине и биологии. Екатеринбург. РИО УрО РАН. 2014. 576 с.
6. Левицкая А.Б. Никитюк Д.Б. Современные методы определения апоптоза. Вестник новых медицинских технологий. 2005, Т. 12, № 3-4, с. 33.
7. Петров С.В. Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань. Титул. 2004. 451 с.
8. Dolznig H., Habermann B., Stangl K. Apoptosis protection by the Epo target Bcl-X(L) allows factor-independent differentiation of primary erythroblasts. Curr. Biol.12: 1076-1085. 2002.
9. Koury M.J., Bondurant M.C. Control of red cell production: the roles of programmed cell death (apoptosis) and erythropoietin. Transfusion. 30 (8): 673-674. 1990.
10. Manwani D., Bieker J.J. The erythroblastic island. Curr. Top. Dev. Biol. 82: 23-53. 2008.
11. Захаров Ю.М., Тишевская Н.В. О взаимосвязи функциональной активности центральных макрофагов с кинетикой эритропоэза в эритробластических островках. В сб.: Вопросы экспериментальной физиологии к 90-летию со дня рождения академика В.Н.Черниговского. Екатеринбург. 95-103. 1997.
12. Kalaidjieva V., Zakharov Yu.M., Rassokhin A.G. Humoral and short cell-cell interaction in the regulation of erythropoiesis. XXXII Congress Intern. Union Physiolog. Sci. Glasgow. p. 100 (H-2. 99.18/P). 1993.
13. Anglillo-Scherer A., Burner L., Lambrechts D., Fish R.J., Tjwa M., Plaisance S., Sugamele R., De Mol M., Martinez-Soria E. Role of Gas-6 in erythropoiesis and anemia in mice. J. Clin. Invest. 118(2):583-596. 2008.
14. Захаров Ю.М. Регуляция эритропоэза в эритробластических островках костного мозга. Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова. 97(9): 980-994. 2011.
15. Калайджиева В.Ц., Рассохин А.Г., Захаров Ю.М. Проследивание на эритропоетинный отговор на организм след однократна кръвовазугуба у плъхове. Българска медицина. 1(2): 42-45. 1996.
16. Захаров Ю.М., Мельников И.Ю., Рассохин А.Г. Исследование эритропоэза модифицированным методом выделения эритробластических островков костного мозга. Гематология и трансфузиология. 29 (4): 52 – 54. 1984.
17. Le Charpentier Y., Prenant M. Isolement de l'ilot

REFERENCES

1. Zakharov Yu. M., Rassokhin A.G. Erythroblastic island. M. Meditsina. 2002. 280 p.
2. Bessis M., Breton-Gorius J. Granules ferrugineux observes au microscope electronique dans les cellules de la moelle osseuse et dans les sidârocytes. C. R. Acad. Sci. 1956. No. 243, pp. 1235-1237.
3. Puthalakath H., Huang D., O'Reily L. The proapoptotic activity of the Bcl-2 family member Bim. Mol. Cell. 1999. No. 3, pp. 287–296.
4. Vladimirskaia E.B. Mechanisms of apoptotic cell death. Gematologiya i transfuziologiya. 2002. Vol. 47, No. 2, pp. 35–40.
5. Zurochka A.V., Khaydukov S.V., Kudryavtsev I.V., Chereshev V.A. Flow cytometry in medicine and biology. Ekaterinburg. RIO UrO RAN. 2014. 576 p.
6. Levitskaya A.B. Nikityuk D.B. Modern methods for determination of apoptosis. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2005. Vol. 12, No. 3-4, p. 33.
7. Petrov S.V. Raykhlin N.T. Manual on immunohistochemical diagnostics of human tumors. Kazan'. Titul. 2004. 451 p.
8. Dolznig H., Habermann B., Stangl K. Apoptosis protection by the Epo target Bcl-X(L) allows factor-independent differentiation of primary erythroblasts. Curr. Biol. 2002. No. 12, pp. 1076-1085.
9. Koury M.J., Bondurant M.C. Control of red cell production: the roles of programmed cell death (apoptosis) and erythropoietin. Transfusion. 1990, Vol. 30, No. 8, pp. 673-674.
10. Manwani D., Bieker J.J. The erythroblastic island. Curr. Top. Dev. Biol. 2008. No. 82, pp. 23-53.
11. Zakharov Yu.M., Tishevskaya N.V. On the relationship of the functional activity of the Central macrophages with kinetics of erythropoiesis in erythroblastotic Islands. In sat: problems of experimental physiology the 90th anniversary of the birth of academician V. N. Chernigovskiy. Ekaterinburg. 1997. pp. 95-103.
12. Kalaidjieva V., Zakharov Yu.M., Rassokhin A.G. Humoral and short cell-cell interaction in the regulation of erythropoiesis. XXXII Congress Intern. Union Physiolog. Sci. Glasgow. r. 100 (H-2. 99.18/P). 1993.
13. Anglillo-Scherer A., Burner L., Lambrechts D., Fish R.J., Tjwa M., Plaisance S., Sugamele R., De Mol M., Martinez-Soria E. Role of Gas-6 in erythropoiesis and anemia in mice. J. Clin. Invest. 118(2):583-596. 2008.
14. Zakharov Yu.M. Regulation of erythropoiesis in erythroblastosis islands of the bone marrow. Ross. fiziol. zh. im. I.M. Sechenova. 2011. Vol. 97, No. 9, pp. 980-994.
15. Kalaydzhieva V.Ts., Rassokhin A.G., Zakharov Yu.M. Prosivane erythropoietin response to the organism after a single blood loss in rats. B»lgarska meditsina. 1996. 1(2), pp. 42-45.
16. Zakharov Yu.M., Mel'nikov I.Yu., Rassokhin A.G. The study of erythropoiesis by a modified method of isolation in bone marrow erythroblastic islands. Gematologiya i transfuziologiya. 1984. 29 (4), pp. 52–54.

erythroblastique. Etude en microscopie optique et electronique a balayage. *Nouv. Rev. Fr. Hemat.* 15: 119 - 140, 1975.

18. Пушкарев В.П., Захаров Ю.М., Рассохин А.Г. Об изменении эритропоэза в эритробластических островках костного мозга крыс после однократной кровопотери. *Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 77(4): 16-23. 1991.

19. Awai M., Okada S., Takebayashi J. Studies on the mechanism of denucleation of the erythroblast. *Acta Haemat.* 39: 193-202. 1968.

20. Bessis M., Breton-Gorins J. Thiery J. Role possible de l'hémoglobine accompagnant le neyau des erythroblastes dans l'origine de la stercobiline eliminee precocement. *C. R. Acad. Sci.* 252: 2300-2310. 1961.

21. Hermine O., Romeo P.-H. Disorders of iron homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis. *E.S.H. Paris.* 2006.

22. Bessis M., Brecher G. A second look at stress erythropoiesis. *Blood cells.* 1(3): 409-417. 1975.

23. Захаров Ю.М. Лекции по физиологии системы крови. *Медицинский вестник.* 2003. № 3(115), с. 4-232.

24. Koury M.J., Bondurant M.C. Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science.* 248: 378-381. 1990.

25. Maxwell P.H., Pugh C.W. Disorders of iron homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis. *E.S.H. Paris.* 2009.

26. Куренков Е.Л., Шевяков С.А., Рассохин А.Г., Захаров Ю.М. Активность ядрышковых организаторов в клетках культур эритробластических островков костного мозга. *Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 88(9): 1182-1190. 2002.

27. Куренков Е.Л., Рассохин А.Г., Кузнецов М.Е., Шевяков С.А. Активность ядрышковых организаторов в клетках эритробластических островков костного мозга при различных функциональных состояниях эритропоэза. *Вестник РАМН.* (3): 13-16. 2002.

28. Куренков Е.Л., Рассохин А.Г., Захаров Ю.М. Активность ядрышковых организаторов центральных макрофагов культур эритробластических островков костного мозга. *Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 89(9): 1085-1094. 2003.

29. Куренков Е.Л., Рассохин А.Г., Захаров Ю.М. Влияние колониестимулирующего макрофагального фактора на активность ядрышковых организаторов центральных макрофагов культур эритробластических островков костного мозга. *Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 90 (7): 882-888. 2004.

30. Куренков Е.Л., Кузнецов М.Е., Рассохин А.Г., Захаров Ю.М. Содержание рибонуклеопротеидов в эритробластических островках костного мозга при различных функциональных состояниях эритропоэза. *Росс. физиол. ж. им. И.М. Сеченова.* 92(11): 1339-1344. 2006.

17. Le Charpentier Y., Prenant M. Isolement de l'ilot erythroblastique. Etude en microscopie optique et electronique a balayage. *Nouv. Rev. Fr. Hemat.* 1975. No. 15, pp. 119-140,

18. Pushkarev V.P., Zakharov Yu.M., Rassokhin A.G. About changes of erythropoiesis in bone marrow erythroblastic islands of rats after a single blood loss. *Ross. fiziol. zh. im. I.M. Sechenova.* 1991. 77 (4), pp. 16-23.

19. Awai M., Okada S., Takebayashi J. Studies on the mechanism of denucleation of the erythroblast. *Acta Haemat.* 1968. 39, pp. 193-202.

20. Bessis M., Breton-Gorins J. Thiery J. Role possible de l'hémoglobine accompagnant le neyau des erythroblastes dans l'origine de la stercobiline eliminee precocement. *C. R. Acad. Sci.* 1961. 252, pp. 2300-2310.

21. Hermine O., Romeo P.-H. Disorders of iron homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis. *E.S.H. Paris.* 2006.

22. Bessis M., Brecher G. A second look at stress erythropoiesis. *Blood cells.* 1975. 1(3), pp. 409-417.

23. Zakharov Yu.M. Lectures on the physiology of the blood. *Meditsinskiy vestnik.* 2003. No. 3(115), pp. 4-232.

24. Koury M.J., Bondurant M.C. Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science.* 1990. No. 248, pp. 378-381.

25. Maxwell P.H., Pugh C.W. Disorders of iron homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis. *E.S.H. Paris.* 2009.

26. Kurenkov E.L., Shevyakov S.A., Rassokhin A.G., Zakharov Yu.M. Activity of nucleolar organizers in the cells of the cultures bone marrow erythroblastic islands. *Ross. fiziol. zh. im. I.M. Sechenova.* 2002. No. 88(9), pp. 1182-1190.

27. Kurenkov E.L., Rassokhin A.G., Kuznetsov M.E., Shevyakov S.A. Activity of nucleolar organizers in the cells of the bone marrow erythroblastic islands in different functional states of erythropoiesis. *Vestnik RAMN.* 2002. No. 3, pp. 13-16.

28. Kurenkov E.L., Rassokhin A.G., Zakharov Yu.M. Activity of nucleolar organizers of the central macrophage cultures of the bone marrow erythroblastic islands. *Ross. fiziol. zh. im. I.M. Sechenova.* 2003. No. 89(9), pp. 1085-1094.

29. Kurenkov E.L., Rassokhin A.G., Zakharov Yu.M. The influence of macrophage colony-stimulating factor on the activity of nucleolar organizers of the central macrophage cultures of the bone marrow erythroblastic islands. *Ross. fiziol. zh. im. I.M. Sechenova.* 2004. No. 90 (7), pp. 882-888.

30. Kurenkov E.L., Kuznetsov M.E., Rassokhin A.G., Zakharov Yu.M. The contents of rhybonucleoproteins erythrokariocytes of the bone marrow islands in different functional states of erythropoiesis. *Ross. fiziol. zh. im. I.M. Sechenova.* 2006. No. 92(11), pp. 1339-1344.

Авторы
Кузнецов Михаил Евгеньевич
Медицинский центр «Медэм»
Кандидат медицинских наук, врач
Российская Федерация, 454080, Челябинск, ул. Воро-
вского, 54
Mikhail171@rambler.ru

Куренков Евгений Леонидович
Южно-Уральский медицинский университет
Доктор медицинских наук, профессор, заведующий
кафедрой нормальной анатомии
Российская Федерация, 454092, Челябинск, ул. Во-
ровского, д. 64
KurenkovEL@chelsma.ru

Захаров Юрий Михайлович
Южно-Уральский медицинский университет,
Доктор медицинских наук, профессор, академик
РАН, заведующий кафедрой нормальной физиоло-
гии

Authors:
Kuznetsov Mikhail E.
Clinic «Medaem»
Candidate of medical sciences, doctor
Chelyabinsk, 454080, Vorovskogo St., 54, Russian
Federation
mikhail171@rambler.ru

Kurenkov Evgeniy L.
South-Ural State Medical University
Doctor of medical Sciences, professor, head of the
department of normal anatomy
Chelyabinsk, 454092, Vorovskogo St., 64, Russian
Federation
KurenkovEL@chelsma.ru

Zakharov Yuriy M.
South-Ural State Medical University
Doctor of medical sciences, professor, head of the
department of normal physiology, academician of the
Russian Academy of Sciences

Контактная информация автора, ответственного за
переписку с редакцией:
Кузнецов Михаил Евгеньевич
mikhail171@rambler.ru

Contact information of the author responsible for
correspondence
Kuznetsov Mikhail E.
mikhail171@rambler.ru

Дата поступления 17.11.2016

Received 17.11.2016

Образец цитирования:
Кузнецов М. Е., Куренков Е. Л., Захаров Ю. М. Про-
явления апоптоза в эритрокариоцитах эритробла-
стических островков костного мозга крыс. Вестник
уральской медицинской академической науки. 2016,
№4, с. 23–29, DOI: 10.22138/2500-0918-2016-14-4-23-
29

For citation:
Kuznetsov M. E., Kurenkov E. L., Zakharov Yu.
M. Projavenija apoptoza v jeritrokariocitah
jeritroblasticheskikh ostrovkov kostnogo mozga krys
[Demonstration of apoptotsis in erythroblastic islands
erythrokaricytes of rats bone marrow] Vestn. Ural.
Med. Akad. Nauki. – Journal of Ural Medical Academic
Science. 2016, no. 4, pp. 23–29. DOI: 10.22138/2500-
0918-2016-14-4-23-29 [In Russ.]