

периодонта образуют как бы три слоя. Первый слой располагается на границе с костью альвеолы. Он характеризуется преобладанием клеток остеобластического ряда. Второй – средний, в нем представлены фибробласты различной степени зрелости, макрофаги, тучные клетки и эпителиальные островки. Третий слой граничит с цементом корня. Здесь преобладают малодифференцированные клетки, цементобласты.

Клеточные элементы периодонта принимают участие в функциональной и морфологической перестройке периодонта во взрослом организме, в частности, в удлинении его волокон. В периодонте отмечается высокая скорость обновления коллагена. Разрушение периодонта чаще всего связано с хроническим воспалительным процессом – периодонтитом, вызванным проникновением инфекции. Воспалительный процесс распространяется на кость альвеолярного отростка, десну и цемент. Это может привести к пародонтиту – воспалительно-дистрофическому процессу, результатом которого является расшатывание и выпадение зубов.

*Кругляков П. П., Сосунов А. А., МакКхан Г.-П, Кузнецов С. Л.,  
Балашов В. П., Уткина-Сосунова И. В., Ву Ш., Шиханов Н. П.,  
Ховряков А. В., Подрезова Е. П.*

### **АНОМАЛИИ МИТОЗА И ПОЛИПЛОИДИЯ ТИПИЧНЫ ДЛЯ РЕАКТИВНЫХ АСТРОЦИТОВ**

*Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (заведующий – проф. С. Л. Кузнецов)  
Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова, Москва, e-mail: kpp99@mail.ru;  
кафедра цитологии, гистологии и эмбриологии (заведующий – проф. В. П. Балашов)  
Мордовского государственного университета, Саранск; отдел нейрохирургии  
(заведующий – проф. Р. Солонин) Колумбийского университета, Нью-Йорк*

В настоящей работе показано, что одной из причин образования С-митозов в астроцитах являются аномалии в формировании веретена деления вследствие неправильной позиции центросом и невозможности занять правильное положение хромосомами во время формирования метафазной пластинки. Выход из С-митоза происходит вне зависимости от активации анафаза-способствующего фактора (anaphase-promoting complex) и определяется формированием маленьких реституционных ядер, которые впоследствии сливаются с образованием двух-трех ядер. Такие полиплоидные астроциты могут сохранять жизнеспособность длительное время и даже вступать в следующий митоз.

С-митозы в астроцитах были обнаружены во всех использованных экспериментальных моделях повреждения головного мозга: ишемии, судорожного перевозбуждения при введении пилокарпина и каиновой кислоты и механической травме. Обычно такие клетки располагались вблизи очагов повреждения ткани в области анизоморфного реактивного глиоза. Особенно много аномальных форм митозов было обнаружено при введении пилокарпина (ПК), и мы использовали эту модель для изучения деления клеток глии.

Максимальное число делящихся астроцитов наблюдалось на 4-е сутки после введения ПК (более 45 % астроцитов были Ki67+ и BrdU+ (одноразовое введение в дозе 80 мг/кг), в одном срезе определялось  $89 \pm 32$  астроцитов в М-фазе). NG2 клетки и микроглия имели максимум деления на 3-и сутки. Кинетическая характеристика деления астроцитов была показана при однократном введении BrdU.

Вначале мы исследовали локализацию centrosом в клетках с концентрированными хромосомами и определили, что примерно в 10 % случаев (38 клеток из 387 исследованных) они располагались в одном квадранте условной плоскости, соответствующей плоскости метафазной пластинки. Другой частой аномалией позиции centrosом являлось их отхождение от фокуса веретена деления. Наблюдалось несколько вариантов подобной диссоциации: 1) значительное отхождение (на расстояние 12 мкм) по оси веретена в цитоплазму проксимальной части отростка; 2) перемещение в сторону хромосом, что обычно наблюдалось, когда полюс веретена находился вблизи плазматической мембраны. В последнем случае полюс веретена терял конусовидную форму и становился серповидным.

Типичным для такой локализации полюсов и хромосом была диссоциация гамма-тубулина из области centrosом с образованием нескольких центров на уровне серповидного фокуса веретена деления. Как правило, данная особенность сочеталась с наличием отдельных (lagging) хромосом, находящихся в отдалении от основной массы хромосом.

Предполагается, что расхождение дочерних centrosом после деления материнской в начале S-периода зависит от астральных микротрубочек, взаимодействующих +-концами с белками кортикальной пластинки (их — концы находятся в centrosомах), в том числе и с моторными белками --конца (динеин, EB1, APC) и с белками наружной пластинки (ламинаы) ядерной оболочки, а также и между собой, где преобладающее значение имеют --концы моторных белков динеин и Eg5. После разрушения ядерной оболочки основное значение в миграции centrosом имеют кортикальные связи микротрубочек.

Мы предполагаем, что установленные нарушения в позиции centrosом связаны с геометрией клеток (наличие крупных отростков), а также их гипертрофией/отеком. Изученные в качестве контроля NG2-клетки всегда делились с образованием двух дочерних клеток, и описанные в астроцитах нарушения centrosом в них не определялись. Принципиальным отличием астроцитов от NG2-клеток является степень гипертрофии/отека, а значит, и размер проксимальных отделов отростков. Астральные микротрубочки, которые попадают в отростки, не способны оказывать механическое воздействие на centrosомы (как тянущее, так и толкающее), что может приводить к нарушению миграции и локализации органелл.

Определенное значение в позиции centrosом имеет и установление смещения ядер на периферию клеток и, соответственно, формирование веретена на периферии цитоплазмы (30 % клеток). В данном случае геометрические ограничения будут иметь еще большее значение.

Вопрос о значении centrosом в сегрегации хромосом под влиянием микротрубочек веретена не является полностью выясненным в клетках животных,

прежде всего вследствие новых данных о происхождении кинетохорных микротрубочек. Большое значение имеют их нуклеации вблизи хромосом, в особенности в области кинетохор. Как показали наши наблюдения о наличии правильно сформированных фокусов (полюсов) веретена в случаях, когда центросомы находились на значительном расстоянии от них, нуклеация (инициации образования вследствие, прежде всего, гамма-тубулина) кинетохорных микротрубочек происходит преимущественно около хромосом. Важным фактором, обеспечивающим схождение их в полюса веретена, являются белки NuMa и TPX2. Таким образом, хотя центросомы и не являются критическим компонентом для правильного формирования веретена, тем не менее их позиция имеет большое значение для начала формирования веретена и для последующего определения уровня (плоскости) цитокинеза.

Гипертрофия клеток как показатель увеличения белка в клетках может иметь и прямое влияние на деятельность веретена, прежде всего на взаимосвязь микротрубочек с кинетохорами и полюсами веретена. После разрушения ядерной оболочки цитоплазма получает доступ к хромосомам, в гипертрофированных клетках этот процесс может приводить к стохастическим взаимодействиям белков. Так, нестин, экспрессия которого значительно повышается в астроцитах, взаимодействует с белками полюса веретена деления (гамма-тубулином, TPX2). Области, где находятся отставшие (lagging) хромосомы, заполнены белками цитоскелета (хотя и не в виде филаментов) и другими цитоплазматическими белками. Анализ экспрессии глиального кислого фибриллярного белка (ГКФБ) и числа lagging хромосом показал, что эти процессы статистически значимо взаимосвязаны.

Проникновение астральных микротрубочек в клеточные отростки имеет еще одно следствие — происходит вытягивание клеточных отростков разной степени. Следует отметить, что, в отличие от клеток в культуре, отростчатые клетки *in vivo* не округляются (исключением являются аномальные С-митозы в астроцитах, когда клетки приобретают шаровидную форму, но это уже патология). Так, NG2-клетки даже сохраняют синаптические контакты во время митоза. Во время митоза астроцитов, конечно, происходит реорганизация кортикальной пластинки, что ярко проявляется в уменьшении числа коннексинов 30 и 40 и исчезновении связей посредством щелевидных контактов.

С-митозы астроцитов являются ярким примером задержки митозов в результате невыполнения условий и непрохождения spindle checkpoint (контрольной точки веретена деления). Два фактора имеют основное значение в выполнении этого checkpoint — прикрепление микротрубочек ко всем кинетохорам и механическое натяжение этих микротрубочек со стороны полюсов.

Анализ механизмов выхода клеток из задержанного митоза представляет большой интерес с точки зрения возможной противоопухолевой терапии. Мы исследовали возможность митотической катастрофы в астроцитах с помощью TUNEL и gamma-H2AX (оба метода позволяют оценить повреждение (разрывы) ДНК). Только минимальное число клеток (4 из 347) показали позитивную реакцию. Следует отметить, что митотическая катастрофа — особый вид клеточной гибели, показанный только в культуре, не имеет четких критериев, позволяющих судить как о точке необратимости, так и о механизмах смерти. Мы не можем от-

рицать, что часть (большая, чем удается определить вышеуказанными способами) клеток во время или после С-митоза погибает. Однако многие клетки после слияния реституционных маленьких ядер превращаются в одно-, дву- и более ядерные клетки, которые невозможно отличить от диплоидных астроцитов. Мы наблюдали много дву- и более ядерных клеток в сроки от одного месяца и более (до одного года) после введения пилокарпина, которые имели все черты, свойственные нормальным астроцитам. Более того, в некоторых случаях полиплоидные клетки через много месяцев после первоначального инсульта вступали в митоз с несколькими полюсами деления. Следует отметить, что около 15 % астроцитов после кариокинеза не проходят цитокинез и являются двужядерными полиплоидными клетками на протяжении своей последующей жизни. Такая особенность характерна и для гладкомышечных клеток кровеносных сосудов (хотя механизмы образования клеток могут быть различными).

Во всех исследованных С-митозах астроцитов наблюдался высокий уровень экспрессии циклина В (cyclin B), секурина (securing), Cdc20, что свидетельствует об активации spindle checkpoint. Белки кинетохора, участвующие в активации spindle checkpoint (Bub3, BubR1), также определялись в большом количестве. Выход клеток из С-митоза в случае астроцитов означает формирование ядерных мембран вокруг не разделившихся хроматид. Механизмы образования ядерной мембраны после митоза выяснены плохо. Возможно, что определяющую роль играет градиент ГТФ-связанного белка Ran. После образования маленьких ядер они сливаются в большие (процесс не исследован), что приводит к образованию полиплоидных клеток.

Показанная возможность полиплоидных астроцитов повторно вступать в митоз имеет важное значение как возможный источник развития анеуплоидии и опухолей.

*Масловский С. Ю., Пятикоп В. А., Аврунин О. Г.*

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ РАСЧЕТОВ КООРДИНАТ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В СТЕРЕОТАКСИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЯХ НА МОЗГЕ**

*Кафедра гистологии (заведующий – проф. С. Ю. Масловский) Харьковского  
национального медицинского университета, Украина, e-mail: gavrun@list.ru*

---

Целью стереотаксических расчетов является обеспечение высокоточного наведения хирургического инструмента в стереотаксическую мишень [1, 2, 4]. Для этого необходимо решить задачи, связанные с согласованием координатных систем мозга, интраскопических изображений и стереотаксического аппарата, определением опорных ориентиров на интраскопических изображениях, построением внутримозговой системы стереотаксических координат, вычислением геометрических характеристик зоны оперативного вмешательства, формированием параметров управления стереотаксическим аппаратом.