

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гавровская, Л. К. Содержание биогенных аминов в тканях желудка крыс в условиях редуцированного желудочного кровообращения / Л. К. Гавровская, В. М. Седов, А. К. Гусяков // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1983. – Т. 96, № 7. – С. 21-22.
2. Коваленко, Е. А. О теории динамики газов в организме / Е. А. Коваленко // Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. – М.: Наука, 1973. – С. 192-212.
3. Шахламов, В. А. Реакция клеток на гипоксию / В. А. Шахламов, В. И. Сороковой // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1983. – Т. 85, № 7. – С. 12-25.
4. Bassi, M. Ultrastructural cytoplasmic changes of liver cells after reversible and irreversible ischemia / M. Bassi // Exp. Mol. Pathol. – 1964. – Vol. 3. – P. 332-350.
5. Brewer, G. J. Calmodulin, zinc and calcium in cellular and membrane regulation / G. J. Brewer // Amer. J. Hematology. – 1980. – Vol. 8. – P. 231-248.
6. Chien, K. R. Prevention by chlorpromazine of ischemic liver cell death / K. R. Chien, J. Abrams // Amer. J. Pathol. – 1977. – Vol. 88. – P. 539-558.
7. Collan, Y. Studies of the pathogenesis of ischemia cell injury / Y. Collan, B. F. Trump // Virchows Arch. (Cell Pathol.). – 1981. – Vol. 35. – P. 189-199.
8. Gaja, G. Phosphorylation and redox states in ischemic liver / G. Gaia, R. Piciletti // Exp. Mol. Pathol. – 1973. – Vol. 19. – P. 248-265.
9. Gross, R. A. Mechanisms of cyclic AMP regulation in cerebral anoxia and their relationship to glycogenolysis / R. A. Gross, S. A. Ferrendelli // J. Neurochem. – 1980. – Vol. 34. – P. 1309-1318.
10. Imai, S. Effect of ischemia on adenine nucleotides in cardiac and skeletal muscle / S. Imai, A. L. Riley, R. M. Berne // Circ. Res. – 1964. – Vol. 16. – P. 443-450.
11. Kats, A. M. Lipid-membrane interactions and the pathogenesis of ischemic damage in the myocardium / A. M. Kats, F. C. Messeneo // Circulat. Res. – 1981. – Vol. 48. – P. 1-8.
12. Kim, S. U. Brain hypoxia studies in mouse central nervous system culture / S. U. Kim // Lab. Invest. – 1975. – Vol. 33, N 6. – P. 658-664.
13. Marzella, L. Effect of in vivo liver ischemia on microsomes and lysosomes / L. Marzella, H. Glausman // Virchows Arch. (Cell Pathol.). – 1981. – Vol. 36. – P. 1-25.
14. Mozsik, G. Interrelationship between the cholinergic influence, gastric mucosa  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -dependent ATP, ADP ions of gastric juice and basal secretion in patents / G. Mozsik, J. Kutas, L. Nadi // Gastric ion transport, 1978. – P. 199-208.

УДК 612.815-08:577.95

## АНАЛИЗ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТОВ В СЛОЯХ КОЖИ СОБАК ПРИ МЕЛАНОМЕ

**Малашко В. В.<sup>1</sup>, Скоробогатко В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь;

<sup>2</sup> – ЗАО «Jakovo veterinarijos center»

г. Вильнюс, Литва

***Аннотация.** Нарушение межклеточных коммуникаций посредством контактов рассматривают в качестве важного патогенетического механизма злокачественного опухолевого роста меланомы. Акцентируется внимание на роли межклеточных взаимодействий в процессах злокачественной трансформации и механизмах противоопухолевой резистентности. Известно, что структурной основой взаимодействий между клетками являются различные типы*

межклеточных соединений. При развитии меланомы нарушается связь между клетками – уменьшение адгезивности, аномалии в перестройке плазматических мембран, что приводит к дефектам в структуре и функции щелевых контактов.

**Summary.** *Disorder of intercellular communication by junctions is considered the important pathogenic mechanism of malignant tumor growth of melanoma. The article focuses on the role of intercellular communication in the processes of malignant transformation and on mechanisms of antitumor resistance. It is known that the different types of cell junction is a structural base of cell communication. Melanoma induction breaks cells connection resulting to decreasing of adhesiveness and anomaly in rearrangement of plasma membrane which leads to viscosity in structure and gap junctions function.*

**Ключевые слова:** меланома, опухоль, кожа, собаки, контакты, стереология, патология.

**Key words:** *melanoma, tumor, skin, dogs, gap junctions, stereology, pathology.*

Изучению структурной организации контактов и выявлению их функциональной роли уделяется большое внимание. В основе автономности опухоли лежат взаимодействия между самими опухолевыми клетками, опухолевыми клетками и регуляторными системами и неизменными тканями организма-опухоленосителя. При этом происходят нарушения межклеточных взаимодействий на различных уровнях: опухолевая клетка – опухолевая клетка, опухолевая клетка – элементы стромы и компоненты стромы опухоли и сохраненной прилежащей к опухоли ткани, опухолевая клетка – иммунная, эндокринная и нервная регуляция [7].

Одной из основных причин нарушения межклеточных взаимодействий при опухолевом росте – это геномные и/или эпигеномные перестройки в опухолевой клетке, ведущие к изменению ее структуры и функции. Характер нарушений межклеточных взаимодействий в опухоли постоянно меняется в ходе опухолевой прогрессии. При этом автономность опухоли достигает максимума на стадии метастазирования.

Прогрессия опухоли является сложным многоступенчатым процессом, в ходе которого усиливается бесконтрольный автономный рост, фенотипическая и генотипическая гетерогенность опухолевых клеток, приобретает способность к инвазивному, инфильтрирующему росту и метастазированию. В ходе опухолевой прогрессии происходят качественные изменения опухолевой ткани, увеличивающие различия между ней и исходной нормальной тканью [9]. Межклеточные взаимодействия имеют важное значение в процессе гистогенеза. Системообразующими элементами тканевой организации являются межклеточные контакты. К функциям межклеточных контактов, кроме системообразования, относятся также изоляция, интеграция, коммуникация, адгезия, иммобилизирующую и защитную. Межклеточные контакты появляются в эмбриональном развитии позвоночных уже на стадии бластулы и в значительной степени

определяют морфогенетические процессы, создавая в развивающемся органе осмотический градиент: они непосредственно участвуют в митотическом делении. Большое значение придается контактам в нервных тканях. Они встречаются в миелиновой оболочке как центральной, так и периферической нервной системе и, по предположению ряда исследователей, возможно, определяют проводящие свойства мякотных нервных волокон [1, 3, 6].

Важной функцией межклеточных контактов является участие в межклеточной адгезии и в сохранности целостности органов при их механическом растяжении. Кроме того, им приписывается роль в направленном морфогенезе в процессе развития тканей и клеточной дифференцировке. Большое значение для жизнедеятельности ткани имеет организация актиноподобных филаментов промежуточного контакта в форме сплошного пояса. Такая конструкция обеспечивает сокращение клетки по окружности и помогает сохранить целостность эпителиального слоя при сдвигании отдельных клеток. Нейрон-глиальные контакты являются подвижными реактивными структурами, которые могут формироваться быстро в течение 6-10 мин [2, 4].

Щелевые соединения служат структурной основой, обеспечивающей универсальный механизм электротонической передачи возбуждения в тканях. Основной функцией щелевых контактов является обеспечение межклеточного обмена неорганическими ионами и молекулами органических веществ. Плотные контакты обуславливают так называемое контактное торможение, сдерживая образование клеточной массы.

Как указывают В. Ф. Машанский и др. [5], щелевые соединения располагаются преимущественно в наружной трети эпидермиса в слое зернистых клеток и на границе с блестящим слоем и даже иногда в глубоких отделах блестящего слоя. Обычно щелевые соединения выявляются между клетками, особенно обильно снабженными десмосомами. Меланоциты ни разу не участвовали в образовании щелевых контактов, но обилие меланина не влияет на число или распределение щелевых контактов. Обычно протяженность щелевых соединений составляет около 0,5 мкм. Основной функцией щелевых контактов является обеспечение межклеточного обмена неорганическими ионами и молекулами органических веществ.

Способность к взаимодействию друг с другом – фундаментальное свойство клеток организма. Потеря этой способности означает неконтролируемое размножение, дифференцировку и нарушение гистогенетических процессов. Нарушения межклеточных взаимодействий лежат в основе онкологических заболеваний. Отсюда следует, что изучение взаимодействия между клетками будет способствовать пониманию механизмов онкологических процессов. Защитные свойства эпителия обусловлены

состоянием свободной поверхности эпидермиса и межклеточных контактов, в составе которых барьерную функцию выполняют соединительные комплексы, включающие зону замыкания, зону слипания и десмосомы [10].

Проанализированный ультраструктурный анализ в соединительно-клеточных элементах кожи собак при меланоме свидетельствует о функциональной значимости авезикулярных межклеточных соединений.

Плотным контактам приписывается участие в адгезии между клетками и в создании барьера для диффузии веществ по межклеточному пространству. Контакты участвуют в регуляции водных и ионных потоков через эпидермис кожи. Установлено, что среди всех контактов на плотные контакты в среднем приходится до 28 %.

В условиях разрушения эпидермального слоя меланомой данная категория контактов обеспечивает механическое сцепление клеток, поддерживая тем самым полярность в целом. Плотные контакты кроме рогового слоя обнаруживались в блестящем, зернистом и шиповатом слоях. Как показывают наши исследования, плотные контакты – высоко динамичные структуры.

Плотные соединения обнаруживали только в первом слое клеток рогового слоя и между клетками тех слоев, которые расположены непосредственно под роговым слоем. Плотные соединения опоясывают лишь небольшие участки эпидермиса.

В плотном соединении поверхности соседних мембран контактируют друг с другом не по всей длине этого элемента межклеточного контакта, а в определенных местах, формируя «четочную» структуру.

В условиях онкологического процесса в 18 % случаев мы констатировали разрушение плотных контактов. На месте деградации контактов формировались фрагменты (обрывки) мембран и электронноплотный неоформленный материал. Контуры мембран приобретали зигзагообразную форму с повышенной электронной плотностью. Вокруг разрушенных мембран концентрировались глобулярные массы в виде мутных облаков.

Сопоставляя наши исследования и научные данные, можно отметить, что плотные соединения выполняют функцию межклеточных барьеров, препятствуя движению веществ через клеточный пласт по парацеллюлярным путям, либо обеспечивают их селективный транспорт. Контакты поддерживают адгезивную связь между клетками, сообщая клеточному пласту механическую прочность. Состояние барьерной функции плотных соединений зависит от их ультраструктуры. Так, плотные соединения между эпителиоцитами имеют вид сплошного пояса, однако число линий слияния между различными эпителиоцитами неодинаково. Это определяет прочность и проницаемость соединения.

Десмосомы приспособлены к большим механическим нагрузкам, например, в эпидермисе кожи. По современным представлениям, основной функцией десмосом является их участие в межклеточной адгезии. Отсутствие десмосом наблюдается при кожных заболеваниях и опухолях.

Как показывают наши исследования, десмосомы располагаются ближе к базальной части клеток. В отличие от плотных контактов десмосомы – не непрерывные структуры, окружающие клетки целиком, а прерывистые элементы и соединяют клетки наподобие «кнопок».

По нашим данным, в интактных условиях межклеточные пространства в регионе десмосом довольно широкие в пределах 25-30 нм и мембраны идут параллельно друг другу. При меланоме мы установили наличие ассиметричных десмосом. Точки прикрепления встречается только в одной клетке.

Из всех слоев кожи десмосомы наиболее часто в пределах 45 % встречаются в шиповатом слое. По мере дифференцировки и миграции клеток в вышележащий роговой слой они постепенно исчезают. Относительно десмосом можно отметить, что они выглядят в виде слоистой структуры длиной 0,5-2,5 мкм и толщиной примерно 0,1-0,2 мкм, при этом слои располагаются параллельно друг другу. Число десмосом между эпителиоцитами достигает 800-2000 на одну клетку.

Пространство между мембранами составляет 25-40 нм и заполнено электронноплотным материалом. В условиях онкологического процесса мы наблюдали часто разрушение десмосом, возможно, их разрушение связано с ферментами, выделяемые опухолевыми клетками.

Щелевые контакты обнаруживаются на плазмалеммах клеток базального, шиповатого и зернистого слоев. Щелевое соединение занимает 5,1-7,6 % клеток указанных слоев. Этих контактов нет в роговом слое кожи. По современным представлениям щелевые контакты играют определяющую роль в межклеточных коммуникациях. Через эти контакты осуществляется межклеточный обмен ионами и метаболитами.

Через щелевые контакты проникают клеточные индукторы, в частности, цАМФ, что особенно важно для нормального протекания морфогенеза. Количество щелевых контактов коррелирует с интенсивностью пролиферативной активности клеток. Каналы в щелевых контактах способны пропускать веществ с молекулярной массой до 1500. Диаметр этих каналов лежит в области 1,6-2,2 нм.

При развитии меланомы нарушается связь между клетками, а именно, уменьшение адгезивности, аномалии в перестройке плазматических мембран, что приводит к дефектам в структуре и функции щелевых контактов. По научным данным, существует определенная зависимость между дефектами в развитии щелевых контактов и неконтролируемым ростом опухолевых клеток.

Известно, что опухолевый рост меланомы сопровождается существенным снижением щелевых межклеточных контактов (соеобщаемости), в то же время интактные межклеточные коммуникации являются сдерживающим фактором развития опухоли. Через щелевой контакт существует путь распространения в меланоме сигналов, запускающих процесс клеточной гибели, что может являться существенным фактором для подавления опухолевого эффекта межклеточных контактов.

Щелевые контакты на ультратонких срезах выглядят, как специализированная область межклеточной границы, в которой мембраны соседних клеток располагаются строго параллельно друг другу на расстоянии 2,5-4 нм. В наших исследованиях чаще наблюдались линейные формы контактов. Количество щелевых соединений уменьшается от базального слоя к роговому слою.

Общепризнанным является положение о многообразии этиологических факторов, определяющих возникновение и развитие меланом. В этом особая роль принадлежит межклеточным взаимодействиям в процессах злокачественной трансформации и механизмах противоопухолевой резистентности.

Именно щелевые контакты занимают особое место среди различных типов межклеточных соединений и являются ключевым структурно-функциональным фактором поддержания метаболического гомеостаза в коже. Нарушение межклеточной кооперации посредством щелевых контактов является важным фактором патогенетического механизма меланомы, так как известно, что восстановление данного контакта способствует угнетению развития меланомы. Это связано с распространением в популяции меланоцитов сигналов, запускающих процессы клеточной гибели.

Нами отмечено, что при активном меланогенезе происходит разрушение щелевых контактов, то есть межклеточные коммуникации снижаются, хотя известно, что наличие структурированных щелевых контактов служит сдерживающим фактором дальнейшего развития меланомы. Конформационные изменения щелевых контактов сопровождаются уменьшением ширины щели до 7,5-8,2 нм, при норме – 8,7-9,2 нм, происходит фрагментация мембран.

Уменьшение числа щелевых контактов связано, очевидно, с интернализацией с помощью эндоцитоза, а также в результате рассеивания оставляющих их внутри мембранных частиц. Наблюдается достаточно большая протяженность разрушения контактирующих мембран в пределах 1,5-2,8 мкм. В области деструкции контактов концентрируются фибриллярные структуры, рассеивающиеся в интерстициальном пространстве. Отдельные отрезки мембран выглядят «шиповидными», как один из признаков раздражения цитологических структур.

В среднем на долю клеточных поверхностей всех слоев кожи в норме приходится: плотных соединений – 28 %, десмосом – 35 %, щелевых контактов – 37 %. При онкологическом процессе количество деградирующих плотных соединений снижается на 18 %, десмосом – на 22 % и щелевых контактов – на 29 % по отношению к физиологической норме. Стереологические расчеты показывают, что доля клеточной поверхности слоев кожи в норме плотным контактом составляет 7 %, десмосомами – 40 % и щелевыми соединениями – 25 %, при меланоме – 14, 28 и 25 % соответственно.

Таким образом, межклеточные взаимодействия имеют важное значение в процессе онкогистогенеза. Системообразующими элементами тканевой организации являются межклеточные контакты. Кроме системообразования относятся также изоляция, интеграция, коммуникация, адгезия. Нет сомнения в том, что изучение меланогенеза не может проводиться без учета роли межклеточных контактов.

В настоящее время нарушение межклеточных коммуникаций посредством контактов рассматривают в качестве важного патогенетического механизма злокачественного опухолевого роста меланомы. Все более пристальное внимание акцентируется на роли межклеточных взаимодействий в процессах злокачественной трансформации и механизмах противоопухолевой резистентности. Известно, что структурной основой взаимодействий между клетками являются различные типы межклеточных соединений [8].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Архипенко, В. И. Структура и функции межклеточных контактов / В. И. Архипенко, Л. В. Гербильский, Ю. П. Черненко // Структура и функции биологических мембран: сб. науч. тр. – М.: Наука, 1975. – С. 77-95.
2. Боголепов, Н. Н. Возможные механизмы формирования синапсов в онтогенезе / Н. Н. Боголепов, Л. Е. Фрумкина, Н. И. Яковлева // Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1987. – Т. 92, № 5. – С. 20-27.
3. Гербильский, Л. В. Сравнительная морфология межклеточных контактов / Л. В. Гербильский // Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1980. – Т. 78, № 1. – С. 11-29.
4. Комиссарчик, Я. Ю. Ультраструктура специализированных межклеточных контактов / Я. Ю. Комиссарчик // Цитология. – 1980. – Т. 22, № 9. – С. 1011-1036.
5. Машанский, В. Ф. Топография щелевых контактов в коже человека и их возможная роль в безнервной передаче информации / В. Ф. Машанский, Ю. В. Марков, В. Х. Шпунт // Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1983. – Т. 84, № 3. – С. 53-60.
6. Сотников, О. С. Синтициальная цитоплазматическая связь и слияние нейронов / О. С. Сотников. – СПб.: Наука, 2013. – 202 с.
7. Топография щелевых контактов в коже человека и их возможная роль в безнервной передаче информации / В. М. Машанский [и др.] // Архив анатомии, гистологии, эмбриологии. – 1983. – Т. 84, № 84. – С. 53-60.
8. Larsen, W. J. Structural diversity of gap junctions / W. J. Laressn // Tissue, cell. – 1977. – Vol. 9, N 3. – P. 373-394.
9. Loewenstein, W. R. Membrane junction in growth and differentiation / W. R. Loewenstein // Fed. Proc. – 1973. – Vol. 32. – P. 60-64.
10. Wolf, K. Trends in electron microscopy of skin / K. Wolf // J. Invest. Dermatol. – 1976. – Vol. 67, N 1. – P. 59-57.