

БИОХИМИЯ / BIOCHEMISTRY

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.135.7>

ГИБЕРНАЦИЯ – ОПТИМАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ АПОПТОЗА

Научная статья

Омариева М.Г.<sup>1\*</sup>, Нурмагомедова П.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ORCID : 0000-0003-1649-2508;

<sup>2</sup> ORCID : 0000-0002-4207-8880;

<sup>1,2</sup> Дагестанский государственный университет, Махачкала, Российская Федерация

\* Корреспондирующий автор (tensi2007[at]mail.ru)

**Аннотация**

Ещё в 1972 году Джон Керр описал процесс гибели лимфоцитов под действием глюкокортикоидов и назвал его апоптоз.

Апоптоз (от древнегреческого слова, означающего «листопад») – форма запрограммированной гибели клеток. А в 2002 за исследование в области апоптоза была присуждена нобелевская премия Сиднею Бреннеру, Роберту Хорвицу и Джону Салстону. С тех пор вышло много работ где подробно описаны механизмы индукции и регуляции апоптоза.

Однако более точная последовательность развития апоптоза внутриклеточных процессов еще не совсем ясна. Более того, остается много непонятого в истории регуляторных механизмов процесса смерти клеток. Так, полное исследование в этой области имеет высокий терапевтический и научный потенциал. Причиной тому является важность данного процесса в различных аспектах существования многоклеточных организмов. Предложенная нами модель для исследований в области апоптоза является идеальным и уникальным природным состоянием которая возможно прольет свет на многие загадки этого удивительного процесса.

**Ключевые слова:** гибернация, апоптоз, каспаза, аутофагия.

HIBERNATION IS AN OPTIMAL MODEL FOR THE STUDY OF APOPTOSIS

Research article

Omarieva M.G.<sup>1\*</sup>, Nurmagomedova P.M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ORCID : 0000-0003-1649-2508;

<sup>2</sup> ORCID : 0000-0002-4207-8880;

<sup>1,2</sup> Dagestan State University, Makhachkala, Russian Federation

\* Corresponding author (tensi2007[at]mail.ru)

**Abstract**

As early as 1972, John Kerr described the process of lymphocyte death under the influence of glucocorticoids and called it apoptosis.

Apoptosis (from the ancient Greek word meaning "leaf fall") is a form of programmed cell death. In 2002, the Nobel Prize was awarded to Sidney Brenner, Robert Horwitz and John Sulston for research in the field of apoptosis. Since then, many works have been published that describe in detail the mechanisms of apoptosis induction and regulation.

However, the more precise sequence of the development of apoptosis of intracellular processes is still not entirely clear. Moreover, much remains unclear about the history of the regulatory mechanisms of the cell death process. Thus, a comprehensive study in this area has a high therapeutic and scientific potential. The reason for this is the importance of this process in various aspects of multicellular organisms. Our proposed model for apoptosis research is an ideal and unique natural condition that possibly shed light on many mysteries of this fascinating process.

**Keywords:** hibernation, apoptosis, caspase, autophagy.

**Введение**

Динамичное и физиологическое развитие организма и функционирование иммунной системы поддерживаются балансирующим соотношением между образующимися и отмирающими клетками. Апоптоз – необходимый механизм морфогенеза и обеспечения нормального функционирования многоклеточных организмов [2, С. 3-11], [3, С. 3-16]. Это процесс регулируемой, программируемой (физиологической) гибели клеток, при которой клеточные популяции очищаются от отработанных, нежелательных или поврежденных клеток.

В организме человека, как правило, ежедневно зарождаются и гибнут десятки миллиардов клеток. За год общий вес обновляемых клеток достигает веса тела человека [12, С. 122-142].

Главными морфологическими признаками этого удивительного процесса служат конденсация хроматина и сжатие клетки. Далее клетка распадается на фрагменты, которые фагоцитируются макрофагами или соседними клетками. Воспалительная реакция отсутствует, так как нарушения целостности мембраны клетки и ее фрагментов в ходе апоптоза не происходит.

Гибель клетки запускается двумя механизмами – внутренним и рецепторным. Внутренний апоптоз, также имеет название митохондриальный, развивается при дефиците условий для выживания клеток (цитокинов и контактных сигналов от соседних клеток), а также от воздействия цитотоксических агентов (облучение, стероидные гормоны, цитостатики).

Вследствие этого изменяется баланс митохондриальных факторов семейства Bcl-2 (проапоптотический и противоапоптотический). Из митохондрии в цитозоль выходит цитохром C, где он активизирует каспазу 9 путем связывания Araf-1 с АТФ/дАТФ и прокаспазой 9. После этого активируются новые исполнительные (эффektorные) каспазы, которые и приводят клетку к уничтожению [4, С. 7-16].

Нарушенный процесс апоптоза лежит в основе различных патологических состояний организма. Доказано, что уменьшение способности клеток претерпевать апоптоз может привести к развитию злокачественных опухолей, вирусных инфекций, аутоиммунных заболеваний [5, С. 403-418], [6, С. 75-87], в то же время излишняя активность апоптоза может привести к различным аутоиммунными дегенеративным заболеваниям типа Хантингтона, Паркинсона и Альцгеймера [7, С. 330-349].

Изучение апоптоза и исследования в этой области публикуются в целом ряде обзоров [8, С. 461-482], [9, С. 294-305], [10, С. 9-22], [11, С. 155-181]. Выявлены основные механизмы реализации апоптоза, разработаны молекулярные и морфологические критерии апоптотической клеточной смерти, выяснены биохимические и молекулярные механизмы активации и регуляции апоптоза, идентифицированы сотни генов, которые контролируют инициацию, осуществление и терминальную фазу апоптоза.

Многие из ключевых белков, которые активируются или инактивируются в путях апоптоза, идентифицированы. Но молекулярные механизмы действия или активации этих белков до конца не изучены и находятся в центре внимания продолжающихся исследований.

### **Основная часть**

Для изучения молекулярных механизмов этого уникального явления необходимы модели в которых в естественных условиях активируются и протекают процессы апоптоза. При физиологических условиях найти апоптотизирующую клетку в ткани довольно трудно. Для изучения особенностей апоптоза в эксперименте широко используются модельные объекты, в частности, клеточные культуры, в которых можно индуцировать апоптоз, синхронизировать его и исследовать процессы угасания клеточных функций.

В качестве идеальной модели для изучения апоптоза могут быть использованы гибернирующие животные. В состоянии индуцированного пробуждения и на этапах самосогревания, можно наблюдать как полное отсутствие апоптоза, так и его наличие. Преимущество этого объекта в том, что эта модель является абсолютно физиологическим состоянием, при котором нет необходимости в использовании ингибиторов и активаторов апоптоза.

Зимняя спячка или гибернация, представляет собой адаптацию к нехватке пищи и низким температурам окружающей среды в зимний период года [13, С. 5-8]. Температура тела в этот период значительно снижена и иногда даже может достигать 1-2 °С [14, С. 69-73]. При этом физиологическая активность и потребление кислорода в организме животного существенно (до 100-200 раз) снижены.

Однако глубокая спячка сусликов – не непрерывный процесс. Периодически (через каждые 10-15 дней) животные пробуждаются: температура тела за несколько часов повышается до 37-38 °С, они могут активно двигаться, уровень метаболизма повышается и может превышать уровень бодрствующих животных. Это состояние длится примерно 20 ч, после чего температура тела вновь понижается и животное погружается в глубокую спячку. Следует отметить, что суслики во время периодических пробуждений не питаются и не выделяют продуктов метаболизма [14, С. 69-73].

Проведённые нами исследования показали, что в период глубокой спячки в тканях суслика апоптоз отсутствует. Гистологические препараты тканей печени, сердца и головного мозга суслика исследовали в середине периода спячки (температура тела 1-4 °С), при самосогревании (температура тела 6-29°С) и при полном пробуждении (температура тела 37-38 °С). В состоянии глубокой гибернации признаков апоптоза в тканях суслика не выявлено [15, С. 378-384]. При самосогревании обнаружены признаки начальной стадии апоптоза и лишь при полном пробуждении выявлены единичные гепатоциты и нейроны, сходные с апоптотическими тельцами. Отсутствие воспалительной реакции в тканях также позволяет предположить, что мы наблюдаем стадии апоптоза. Пробуждение сусликов сопровождается значительным повышением активности маркеров состояния лизосомальных мембран, катепсина Д и кислой фосфатазы. В связи с этим мы предполагаем, что возможно в состоянии глубокой гибернации включается другой уникальный механизм, именуемый аутофагия.

Термин «аутофагия» (от др.-греч. αὐτός – «сам» и φαγεῖν – «есть») был введен в 1963 г. бельгийским цитологом и биохимиком, лауреатом Нобелевской премии Кристианом де Дювом (Christian de Duve) для описания процесса получения питательных веществ в результате катаболизма внутриклеточных компартментов лизосомами.

Аутофагия – эволюционно сложившийся процесс лизосомальной утилизации белков и органелл для поддержания своего гомеостаза и жизнедеятельности при неблагоприятных условиях [16, С. 17-25]. Аутофагия служит самозащитным средством, позволяя клеткам выживать при нехватке питательных веществ, энергии или гипоксии, предотвращая накопление токсинов внутри клетки [17, С. 39-41]. Аутофагия на базальном уровне регулируется определенными набором сигнальных молекул во всех клетках организма и индуцируется различными стимулами. В формировании и утилизации аутофагосом участвуют эволюционно консервативные гены, связанные с аутофагией (autophagy-related genes, ATG) [18, С. 77-79]. Данный процесс разделяется на несколько стадий: образование фагофоры, ее элонгация, образование (созревание) аутофагосомы, синтез аутолизосомы и ее деградация.

### **Заключение**

Таким образом, мы хотим отметить, что для полного понимания процессов протекающих в клетках во время апоптоза необходима модель в которой можно будет наблюдать как наличие апоптоза, так и его отсутствие. Важно чтобы эта модель была полностью физиологичной, то есть процесс апоптоза не индуцировался и не ингибировался сторонними препаратами. В качестве такой модели мы предлагаем гибернирующих грызунов, которые идеально подходят под эти критерии.

**Конфликт интересов**

Не указан.

**Рецензия**

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

**Conflict of Interest**

None declared.

**Review**

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

**Список литературы / References**

1. Kerr J.F. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics / J.F. Kerr, A.H. Wyllie, A.R. Currie // *Br. J. Cancer*. — 1972. — Vol. 26. — № 4. — P. 239-257. — DOI: 10.1038/bjc.1972.33.
2. Григорьев М.Ю. Апоптоз в норме и патологии / М.Ю. Григорьев // *Медицинский академический журнал*. — 2003. — Т. 3. — № 3. — С. 3-11.
3. Москалева Е.Ю. Возможные механизмы адаптации клетки к повреждениям, индуцирующим программную гибель / Е.Ю. Москалева, С.Е. Северин // *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. — 2006. — № 2. — С. 2-16.
4. Ярилин А.А. Апоптоз, роль в патологии и значимость его оценки при клинико-иммунологическом обследовании больных (обзор) / А.А. Ярилин, Н.Ф. Никонова // *Медицинская иммунология*. — 2000. — Т. 2. — № 1. — С. 7-16.
5. Cohen-Kaplan V. The ubiquitin-proteasome system and autophagy: Coordinated and independent activities / V. Cohen-Kaplan, I. Livneh, N. Avni et al. // *Int J Biochem Cell Biol*. — 2016. — № 79. — P. 403-418. — DOI: 10.1016/j.biocel.2016.07.019.
6. Desouza M. The actin cytoskeleton as a sensor and mediator of apoptosis / M. Desouza, P.W. Gunning, J.R. Stehn // *Bioarchitecture*. — 2012. — № 2(3). — P. 75-87. — DOI: 10.4161/bioa.20975.
7. Favalaro B. Role of apoptosis in disease / B. Favalaro, N. Allocati, V. Graziano et al. // *Aging*. — 2012. — № 4(5). — P. 330-349. — DOI: 10.18632/aging.100459.
8. Кудрявцев И.В. Современные методы и подходы к изучению апоптоза в экспериментальной биологии / И.В. Кудрявцев, А.С. Головкин, А.В. Зурочка и др. // *Медицинская иммунология*. — 2012. — Т. 14. — № 6. — С. 461-482.
9. Bottone M.G. Morphological Features of Organelles during Apoptosis: An Overview / M.G. Bottone, G. Santin, F. Aredia et al. // *Cells*. — 2013. — № 2(2). — P. 294-305. — DOI: 10.3390/cells2020294.
10. Dewson G. Bcl-2 family-regulated apoptosis in health and disease / G. Dewson, R.M. Kluck // *Cell Health and Cytoskeleton*. — 2010. — Vol. 2. — P. 9-22.
11. Rastogi R.P. Apoptosis: Molecular Mechanisms and Pathogenicity / R.P. Rastogi, R.P. Sinha // *EXCLI J*. — 2009. — № 8. — P. 155-181.
12. Снигиревская Е.С. Ультраструктурные изменения внутриклеточных органелл при апоптозе / Е.С. Снигиревская, Я.Ю. Комиссарчик // *Журнал Биосфера*. — 2018. — Т. 10. — № 2. — С. 122-142.
13. Калабухов Н.И. Спячка млекопитающих / Н.И. Калабухов. — М.: Наука, 1985. — 260 с.
14. Магомедова З.Т. Температурная зависимость активности катепсина D из мозга суслика *Citellus pigmaeus* Pall. в динамике зимней спячки / З.Т. Магомедова, П.М. Нурмагомедова, И.С. Мейланов. // *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион. Естественные науки*. — 2004. — № 2. — С. 69-73.
15. Нурмагомедова П.М. Гистобиохимические признаки апоптоза в тканях сусликов при пробуждении после спячки / П.М. Нурмагомедова, М.Г. Омариева, Б.Г. Магомедгаджиев // *Журнал медико-биологических исследований*. — 2020. — Вып. 8. — № 4. — С. 378-384.
16. Yang X. The role of autophagy induced by tumor microenvironment in different cells and stages of cancer / X. Yang, D.-D. Yu, F. Yan et al. // *Cell Biosci*. — 2015. — № 5. — P. 14. — DOI: 10.1186/s13578-015-0005-2.
17. Maes H. Autophagy: shaping the tumor microenvironment and therapeutic response / H. Maes, N. Rubio, A.D. Garg et al. // *Trends Mol Med*. — 2013. — Vol. 19. — № 7. — P. 428-446. — DOI: 10.1016/j.molmed.2013.04.005.
18. Mizushima N. The Role of Atg Proteins in Autophagosome Formation / N. Mizushima, T. Yoshimori, Y. Ohsumi // *Annu Rev Cell Dev Biol*. — 2011. — № 27. — P. 107-32. — DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154005.

**Список литературы на английском языке / References in English**

1. Kerr J.F. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics / J.F. Kerr, A.H. Wyllie, A.R. Currie // *Br. J. Cancer*. — 1972. — Vol. 26. — № 4. — P. 239-257. — DOI: 10.1038/bjc.1972.33.
2. Grigoriev M.Yu. Apoptoz v norme i patologii [Apoptosis in normal and pathological conditions] / M.Yu. Grigoriev // *Medicinskij akademicheskij zhurnal [Medical Academic Journal]*. — 2003. — Vol. 3. — № 3. — P. 3-11. [in Russian]
3. Moskaleva E.Yu. Vozmozhnye mekhanizmy adaptacii kletki k povrezhdeniyam, induciruyushchim programmnyu gibel' [Possible Manifestations of Cell Adaptation to Damage, Inducing Programmed Death] / E.Yu. Moskaleva, S.E. Severin // *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological Physiology and Experimental Therapy]*. — 2006. — № 2. — P. 2-16. [in Russian]
4. Yarilin A.A. Apoptoz, rol' v patologii i znachimost' ego ocenki pri kliniko-immunologicheskom obsledovanii bol'nyh (obzor) [Apoptosis, the Role in the Occurrence and Detection of Its Assessment in the Clinical and Immunological Development of Diseases (review)] / A.A. Yarilin, N.F. Nikonova // *Medicinskaya immunologiya [Medical Immunology]*. — 2000. — Vol. 2. — № 1. — P. 7-16. [in Russian]

5. Cohen-Kaplan V. The ubiquitin-proteasome system and autophagy: Coordinated and independent activities / V. Cohen-Kaplan, I. Livneh, N. Avni et al. // *Int J Biochem Cell Biol.* — 2016. — № 79. — P. 403-418. — DOI: 10.1016/j.biocel.2016.07.019.
6. Desouza M. The actin cytoskeleton as a sensor and mediator of apoptosis / M. Desouza, P.W. Gunning, J.R. Stehn // *Bioarchitecture.* — 2012. — № 2(3). — P. 75-87. — DOI: 10.4161/bioa.20975.
7. Favaloro B. Role of apoptosis in disease / B. Favaloro, N. Allocati, V. Graziano et al. // *Aging.* — 2012. — № 4(5). — P. 330-349. — DOI: 10.18632/aging.100459.
8. Kudryavtsev I.V. Sovremennye metody i podhody k izucheniyu apoptoza v eksperimental'noj biologii [Modern Methods and Approaches to the Study of Apoptosis in Experimental Biology] / I.V. Kudryavtsev, A.S. Golovkin, A.V. Zurochka et al. // *Medicinskaya immunologiya [Medical Immunology].* — 2012. — Vol. 14. — № 6. — P. 461-482. [in Russian]
9. Bottone M.G. Morphological Features of Organelles during Apoptosis: An Overview / M.G. Bottone, G. Santin, F. Aredia et al. // *Cells.* — 2013. — № 2(2). — P. 294-305. — DOI: 10.3390/cells2020294.
10. Dewson G. Bcl-2 family-regulated apoptosis in health and disease / G. Dewson, R.M. Kluck // *Cell Health and Cytoskeleton.* — 2010. — Vol. 2. — P. 9-22.
11. Rastogi R.P. Apoptosis: Molecular Mechanisms and Pathogenicity / R.P. Rastogi, R.P. Sinha // *EXCLI J.* — 2009. — № 8. — P. 155-181.
12. Snigirevskaya E.S. Ul'trastrukturnye izmeneniya vnutrikletochnyh organell pri apoptoze [Ultrastructural Changes in Intracellular Organelles during Apoptosis] / E.S. Snigirevskaya, Ya.Yu. Commissarchik // *ZHurnal Biosfera [Biosphere Journal].* — 2018. — Vol. 10. — № 2. — P. 122-142. [in Russian]
13. Kalabukhov N.I. Spyachka mlekopitayushchih [Hibernation of Mammals] / N.I.Kalabukhov. — M.: Nauka, 1985. — 260 p. [in Russian]
14. Magomedova Z.T. Temperaturnaya zavisimost' aktivnosti katepsina D iz mozga suslika *Citellus pigmaeus* Pall. v dinamike zimnej spyachki [Temperature Dependence of Cathepsin D Activity from the Brain of the Ground Squirrel *Citellus pigmaeus* Pall. in the Dynamics of Hibernation] / Z.T. Magomedova, P.M. Nurmagedova, I.S. Meilanov // *Izvestiya vysshih uchebnyh zavedenij. Severo-Kavkazskij region. Estestvennye nauki [News of Higher Educational Institutions. North Caucasian Region. Natural Sciences].* — 2004. — № 2. — P. 69-73. [in Russian]
15. Nurmagedova P.M. Gistobiohimicheskie priznaki apoptoza v tkanyah suslikov pri probuzhdenii posle spyachki [Histobiochemical Signs of Apoptosis in the Tissues of Ground Squirrels upon Awakening after Hibernation] / P.M. Nurmagedova, M.G. Omarieva, B.G. Magomedgadzhev // *ZHurnal mediko-biologicheskikh issledovanij [Journal of Biomedical Research].* — 2020. — Iss. 8. — № 4. — P. 378-384. [in Russian]
16. Yang X. The role of autophagy induced by tumor microenvironment in different cells and stages of cancer / X. Yang, D.-D. Yu, F. Yan et al. // *Cell Biosci.* — 2015. — № 5. — P. 14. — DOI: 10.1186/s13578-015-0005-2.
17. Maes H. Autophagy: shaping the tumor microenvironment and therapeutic response / H. Maes, N. Rubio, A.D. Garg et al. // *Trends Mol Med.* — 2013. — Vol. 19. — № 7. — P. :428-446. — DOI: 10.1016/j.molmed.2013.04.005.
18. Mizushima N. The Role of Atg Proteins in Autophagosome Formation / N. Mizushima, T. Yoshimori, Y. Ohsumi // *Annu Rev Cel lDev Biol.* — 2011. — № 27. — P. 107-32. — DOI: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154005.