

Репаративная регенерация поперечно-полосатой скелетной мышечной ткани у мышей, дефицитных по белку дисферлину (BLA/J)

О.Н. Чернова¹, М.О. Мавликеев¹, А.П. Киясов¹, Р.В. Деев²

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

² ПАО «Институт стволовых клеток человека», Москва, Россия

Белок дисферлин необходим для восстановления плазмалеммы в клетках с активными мембранными событиями, в частности он выявлен в трофобласте при формировании синцития, в макрофагах при фагоцитозе, в волокнах поперечно-полосатой скелетной мышечной ткани при репарации сарколеммы в случае микроразрывов, образованных в результате выполнения механической функции. Считается, что процесс репаративной регенерации является усиленным аналогом регенерации повседневной. В этой связи было предположено, что на этапах слияния и объединения мембран одноядерных клеток-предшественниц мышечных волокон важная роль в восстановлении скелетной мышцы после значимого повреждения будет принадлежать дисферлину.

Цель исследования: установить характеристики репаративного рабдомиогенеза у животных дефицитных по белку дисферлину; на основании полученных данных, оценить его роль в репаративном процессе.

Материал и методы. Работа выполнена на мышах двух линий: в качестве контроля использованы животные линии B6C57 (n=16), собственно экспериментальная группа — мыши линии Bla/J (n=16, предоставлены А.Н. Томилиным, Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург). В качестве модели повреждения мышц была выбрана химическая методика. В медиальную головку правой икроножной мышцы всем животным вводили 100 мкл 0,1% раствора новокаина. Животных выводили из эксперимента передозировкой эфирного наркоза через 2, 4, 10 и 14 сут. (n=4 из каждой группы для каждого срока). Забор среднего поперечного сегмента голени производили после извлечения берцовых костей. Для интактного контроля использовали конечность мышей того же возраста, которым не вводили новокаин (0 сут.). Гистологические срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, проводили иммунофлуоресцентное окрашивание антителами к дисферлину (клон ab124684, 1:200, Abcam Великобритания), иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание АТ к Ki-67 (клон ab16667, 1:200, Abcam, Великобритания), миогенину (клон F5D, 1:100, Dako, США), тяжелым цепям быстрого и медленного миозина (MHC fast, клон My-32, 1:500; MHC slow, клон NOQ7.5.4D, 1:2000, Sigma, США). Оценивали индекс пролиферации, долю центральоядерных мышечных волокон, наличие и локализацию указанных белков.

Установлено, что у мышей-мутантов, после повреждения процесс пролиферации в области репаративного рабдомиогенеза менее интенсивен, он завершается позднее, чем в контроле. Репаративный гистогенез в условиях отсутствия дисферлина проходит те же стадии, что и в нормальной мышечной ткани, но с некоторыми отличиями: альтерация протекает интенсивнее с большей долей некроза, регенерация замедленна, пролиферативная активность снижена, дифференцировка отсрочена. Однако, такие различия могут быть обусловлены не только отсутствием дисферлина, но еще и тем, что при прогрессировании т. н. дисферлинопатии создаются неблагоприятные условия для восстановления скелетных мышц после острого повреждения — хроническое воспаление, реакция иммунной системы и др.