

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ ПРИ РАЗВИТИИ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СИСТЕМЕ КРОВИ

Е. А. Шамрай, аспирант,
ФГАОУ ВО «НИУ БелГУ», г. Белгород,
elenashamray@yandex.ru

Резюме: Лимфопролиферативные заболевания с ранних этапов развития сопровождаются изменением функциональных свойств лимфоцитов. Получены новые данные о механических свойствах нормальных и опухолевых лимфоцитарных клеток. Установлено снижение модуля Юнга и увеличение сил адгезии в системе «клетка-клетка» во всех группах больных ОЛЛ по сравнению с показателями в контроле. Полученные результаты имеют важное значение для изучения функциональной активности опухолевых лимфоцитов и механизмов поддержания иммунного статуса у больных лейкозом.

Ключевые слова: *лимфоциты, острый лимфобластный лейкоз, модуль Юнга, силы адгезии.*

Развитие злокачественных лимфопролиферативных процессов в системе крови сопровождается изменением функциональной активности лимфоцитов. Это обусловлено перестройками в структуре клеточной поверхности [2]. В опухолевых клетках происходит дестабилизация плазмалеммы, модификация конформации элементов цитоскелета, перестройка актиновых нитей, системы микротрубочек, фокальных контактов, что влияет на адгезивные свойства клеточной поверхности [1].

Цель работы – изучить механические свойства поверхности лимфоцитов в норме и при развитии острого лимфобластного лейкоза на разных стадиях – при первичной постановке диагноза, лечении, рецидиве.

Экспериментальные исследования выполнены на базе НИЛ «Физиология адаптационных процессов» НИУ БелГУ. Объект исследования – венозная кровь больных ОЛЛ на стадии первичной постановки диагноза ($n = 10$), лечения ($n = 30$), рецидива ($n = 5$). В качестве контроля использовали кровь здоровых людей ($n = 50$).

Венозную кровь собирали в гепаринизированные вакуумные пробирки Vacuette КЗЕ с помощью специализированного медицинского персонала Белгородской областной больницы Св. Иоасафа. Клетки крови разделяли на лейкоциты, эритроциты и тромбоциты путем центрифугирования в течение 5 минут при 1500 об./мин.

Для изучения биофизических свойств поверхности клеток использовали метод атомно-силовой микроскопии (Интегра Вита, конфигурация на базе инвертированного оптического микроскопа Olympus IX-71, NT-MDT, Зеленоград, 2009). Жесткость лимфоцитов измеряли с использованием модифици-

рованного зонда на основе полимерных микросфер, прикрепленных к типлессу CSG11 [3]. Модуль Юнга, количественно характеризующий жесткость поверхности, определяли с помощью силовых кривых, снятых с поверхности 15 лимфоцитов из каждой пробы в режиме силовой спектроскопии.

Силы адгезии в системе «клетка-клетка» измеряли с использованием биосенсорного чипа, изготовленного на основе нативного лимфоцита и типлесса CSG11 [4]. Силы адгезии измеряли в системах «лимфоцит-лейкоцит», «лимфоцит-эритроцит» и «лимфоцит-тромбоцит», регистрируя силовые кривые с поверхности не менее 15 клеток.

Результаты исследований обрабатывали методами вариационной статистики. Достоверность различий между контрольными и опытными пробами определяли с помощью U-критерия Манна-Уитни при $p < 0,05$.

Установлено снижение модуля Юнга лимфоцитов на всех стадиях развития ОЛЛ по сравнению с нормой (рис. 1).

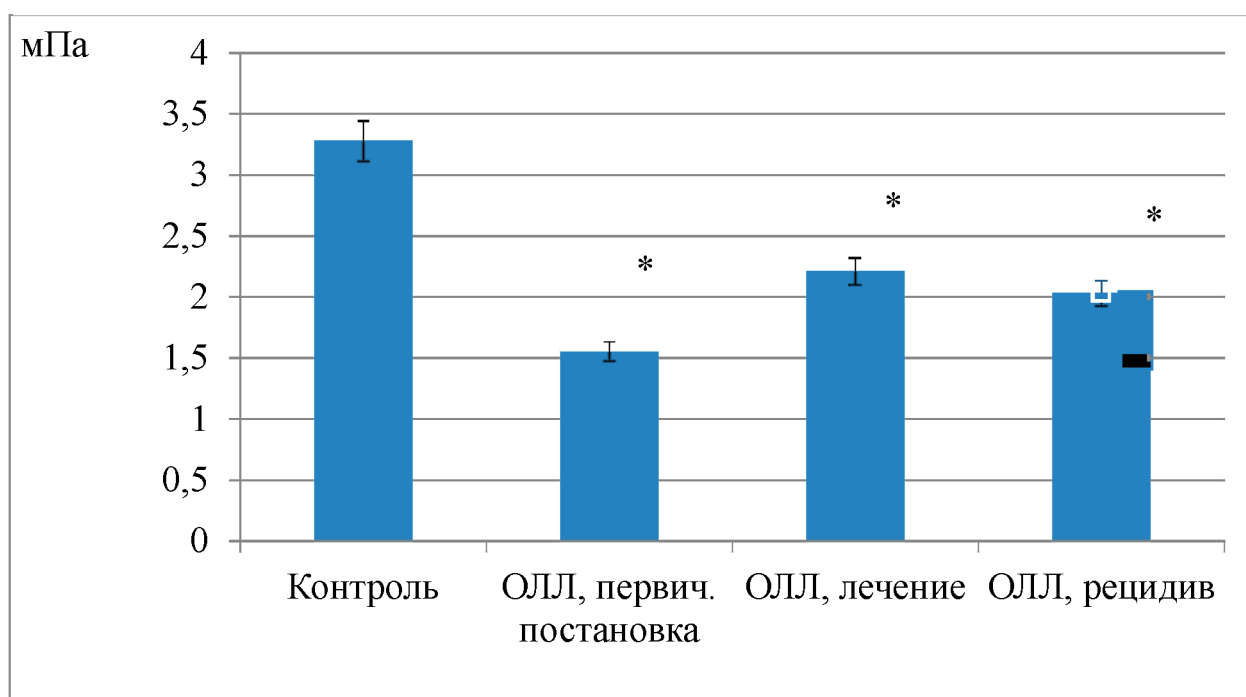


Рис. 1. Величина модуля Юнга поверхности лимфоцитов

* - достоверность различий между значениями модуля Юнга в контрольной и опытной группах.

В норме модуль Юнга поверхности лимфоцитов составил $3,28 \pm 0,03$ мПа. В группе больных ОЛЛ на стадии первичной постановки диагноза жесткость клеток снизилась на 53% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. При ОЛЛ на стадии лечения и рецидива модуль Юнга уменьшился соответственно на 33% ($p < 0,05$) и 38% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

При развитии ОЛЛ в группах больных выявлены изменения сил межклеточной адгезии по сравнению с нормой (таблица).

Величины силы адгезии в системе «клетка-клетка»

Группы обследованных	Сила адгезии, нН		
	«лимфоцит-лейкоцит»	«лимфоцит-эритроцит»	«лимфоцит-тромбоцит»
Здоровые люди (контроль)	78,4 ± 0,5	42,1 ± 0,3	55,3 ± 0,5
ОЛЛ, первичная постановка диагноза	125,4 ± 1,3*	84,2 ± 0,9*	264,2 ± 0,9*
ОЛЛ, лечение	91,8 ± 0,3*	45,0 ± 1,1*	192,4 ± 0,4*
ОЛЛ, рецидив	164,1 ± 0,4*	91,8 ± 0,4*	248,2 ± 1,1*

* – статистически достоверные различия по сравнению со значениями показателей контрольной группы.

На стадии постановки ОЛЛ адгезия в системе «лимфоцит-лейкоцит», «лимфоцит-эритроцит», «лимфоцит-тромбоцит» увеличена соответственно на 60% ($p < 0,05$), 100% ($p < 0,05$) и 378% ($p < 0,05$) относительно контроля. При лечении силы адгезии в системе «лимфоцит-лейкоцит» увеличилась на 17% ($p < 0,05$), «лимфоцит-эритроцит» – на 7% ($p < 0,05$) «лимфоцит-тромбоцит» – на 248% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем. При рецидиве адгезия в системе «лимфоцит-лейкоцит», «лимфоцит-эритроцит», «лимфоцит-тромбоцит» увеличена соответственно на 109% ($p < 0,05$), 118% ($p < 0,05$) и 348% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Таким образом, при развитии ОЛЛ на всех стадиях заболевания (постановка диагноза, лечение, рецидив) модуль Юнга поверхности лимфоцитов снизился по сравнению с контролем, что может быть обусловлено перераспределением белков цитоскелета (актина, спектрина) в клетках при злокачественных лимфопролиферативных процессах в системе крови, а также под действием химиотерапии в период лечения [7].

В ходе исследования установлено увеличение межмолекулярных сил адгезии в системе «клетка-клетка» во всех группах больных ОЛЛ. Повышение адгезивных свойств клеток при развитии опухолевого процесса в системе крови мы связываем, опираясь на данные литературы с изменением цитокинового профиля, накоплением TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, модификацией цитокин-рецепторной сети, повышением уровня молекул межклеточной адгезии (ICAM-1, VCAM-1) [5], увеличением экспрессии антигенов (CD9, CD11, CD21, CD22, CD29, CD31, CD38, CD44) [6].

Выводы

При развитии злокачественных лимфопролиферативных процессов в системе крови изменяются механические свойства поверхности лимфоцитов. На стадии обнаружения ОЛЛ, при лечении и рецидиве болезни снижается жесткость поверхности лимфоцитарных клеток, при этом межмолекулярные силы адгезии в системе «клетка-клетка» увеличиваются. Наиболее выраженные изменения наблюдаются в группах больных ОЛЛ на стадии постановки диагноза и при рецидиве.

Литература

1. Заридзе Д. Г. Канцерогенез. М.: Медицина, 2004. 576 с.
2. Казанский Д. Б. Т-лимфоциты в развитии хронического лимфолейкоза // Клиническая онкогематология. – 2012. – Т. 5, № 2. – С. 85-95.
3. Патент РФ № 2466401 Способ определения упругости клеток крови / Скоркина М.Ю., Сладкова Е.А., Забиняков Н.А. – заявитель и патентообл. БелГУ, дата приоритета № 2011109741 от 15.03.2011.
4. Патент РФ № 2627455 Способ изготовления биомеханического сенсора для измерения сил адгезии в системе «клетка-клетка» в режиме атомно-силовой спектроскопии / М.Ю. Скоркина, Е.А. Шамрай // Бюл. № 22. Опубликовано 08.08.2017.
5. Плотникова С. В., Сафуанова Г. Ш. Цитокины и молекулы межклеточной адгезии как маркеры системного воспаления при острых лейкозах // Медицинский вестник Башкортостана. 2011. №6. С. 136-141.
6. Barber N., Ges S., Belov L. Profiling CD antigens on leukaemias with an antibody microarray // FEBS Lett. 2009. V. 583, № 11. P. 1785-1791.
7. Heng, Y.W., Koh C.G. Actin cytoskeleton dynamics and the cell division cycle // The international journal of biochemistry and cell biology. 2010. V. 42. P. 1622-1633.

FUNCTIONAL PROPERTIES OF LYMPHOCYTES' SURFACE AT THE DEVELOPMENT OF LYMPHOPROLIFERATIVE DISEASES IN THE BLOOD SYSTEM

E. A. Shamray

Summary: Lymphoproliferative diseases are accompanied by changes of the functional properties from early stages of development pathology process. New data about mechanical properties of normal and tumor leukocytes were found. The Young's modulus was reduced and the adhesion force in the system "cell-cell" was increased in all group of patients with acute lymphoblast leukemia as compared with control. The obtained data have an importance mean for the study of functional activity of tumor lymphocytes and mechanisms supported of immune status in the patients with leukemia.

Key words: *lymphocytes, acute lymphoblast leukemia, Young's module, adhesion forces.*