

СТРЕСС-РЕАКЦИИ МЕМБРАН ЛИМФОЦИТОВ ПРИ ПЕРВИЧНЫХ МИЕЛОДИСПЛАСИЧЕСКИХ СИНДРОМАХ

*Н.Н. Климкович¹, Г.П. Зубрицкая²,
Т.И. Козарезова¹, Е.И. Слобожанина²*

¹Минск, ГУО «БелМАПО»,

²Минск, Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси

Известно, что результатом действия продуктов свободнорадикального окисления является влияние «окислительного стресса» на геном, при этом усиливается экспрессия онкогенов на такие цитоплазматические субстраты, как NPKB и AP-1 [1, 2]. При нарушении активации последних снижаются защитные свойства антиоксидантных ферментов, в первую очередь супероксиддисмутаза, обладающих антионкогенными свойствами [1, 3, 4]. Поэтому нормальное функционирование антиоксидантной системы защиты и детоксикация активных форм кислорода определяют устойчивость организма к процессам онкогенеза. Ранее в результате наших исследований установлено достоверное снижение активности супероксиддисмутаза в эритроцитах детей с опухолевыми заболеваниями крови. Кроме того, проведенный корреляционный анализ при этих заболеваниях выявил обратную зависимость активности супероксиддисмутаза со степенью тяжести анемического синдрома, что является признаком истощения антиоксидантной системы защиты [5].

Известно, что продукты перекисного окисления липидов являются универсальными модификаторами физико-химических свойств мембранных структур клеток. Активация свободнорадикальных процессов, снижение антиоксидантной защиты клетки сопровождают нарушение структуры мембран и появление аномальных форм клеток [3, 6]. Доказано, что плазматические мембраны клеток проявляют чувствительность к протеканию в организме и таких патологических процессов, как злокачественное перерождение. «Жесткость» мембраны лимфоцитов периферической крови при онкологической патологии указывает на угасание метаболических процессов в мембране клетки, тем самым затрудняя активацию лимфоцитов, процессы распознавания лимфоцитами своих или чужих клеточных рецепторов, что в конечном итоге

приводит к формированию неадекватного иммунного ответа [7].

Целью настоящего исследования явилось изучение биофизических параметров мембран лимфоцитов при первичных миелодиспластических синдромах, относящихся к клоновым заболеваниям гемопоэза.

Материал и методы. В качестве параметров, характеризующих состояние мембран лимфоцитов, были выбраны тесты с применением флуоресцентных зондов, функциональные группы которых, связываясь с определенными компонентами мембраны, меняют свои люминесцентные характеристики (степень поляризации, интенсивность флуоресценции и др.), что дает информацию о структурных особенностях изучаемой системы. Изменение физического состояния липидов в мембранах лимфоцитов исследовано с помощью флуоресцентных липофильных зондов – пирена, триметиламмониевой солью дифенилгексатриена (ТМА-ДФГ) и 6 – додеканол – 2 – диметиламинонафталена (лаурдана). При проведении флуоресцентных исследований связывания лаурдана с мембранами лимфоцитов концентрация клеток составляла $2 \cdot 10^6$ клеток/мл, а при связывании ТМА-ДФГ и пирена – составляла $1 \cdot 10^6$ клеток/мл. Флуориметрические измерения ТМА-ДФГ проводили аналогично методу, описанному в работе [8], а для лаурдана определяли величину генерализованной поляризации по методу [9].

Исследование мембран проведено на лимфоцитах периферической крови у 8 пациентов с первичными миелодиспластическими синдромами. Возрастная структура пациентов представлена диапазоном от 18 до 59 лет (медиана возраста 42,7 года), вариант заболевания установлен согласно критериев ВОЗ классификации миелоидных неоплазий [10]. В качестве контроля использованы лимфоциты практически здоровых доноров в возрасте 20–43 лет.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования физического состояния мембран лимфоцитов показали, что интенсивность флуоресценции ТМА-ДФГ и генерализованная поляризация флуоресценции лаурдана, включенного в лимфоциты всех пациентов с первичными миелодиспластическими синдромами, достоверно не изменялись по сравнению с контролем. Однако, анализ средних значений интенсивности флуоресценции ТМА-ДФГ в лимфоцитах пациентов в зависимости от варианта миелодиспластического синдрома позволил установить повышение данного показателя при вариантах рефрактерная анемия с избытком бластов (РАЕВ) I и II ($0,652 \pm 0,021$ отн.ед.) на 15% по сравнению с контрольной группой ($0,58 \pm 0,02$ отн.ед.). При исследовании физического состояния мембран лимфоцитов с помощью пирена установлено, что средние значения коэффициента эксимеризации пирена, включенного в мембраны лимфоцитов пациентов с миелодиспластическими синдромами ($0,494 \pm 0,027$ отн.ед.) были достоверно ниже по сравнению с контрольными ($0,860 \pm 0,03$ отн.ед.).

Заключение. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что стресс-реакция лимфоцитов периферической крови при первичных миелодиспластических синдромах проявляется в изменении микровязкости мембранных липидов, наиболее выраженном при вариантах РАЕВ I и II.

Список литературы

1. A rapid screening assay for antioxidant potential of natural and synthetic agents in vitro / P. Srinivasan [et al.] // *Int. J. Oncol.* – 2002. – Vol. 20. – P. 983–986.
2. Bertram, J.S. The molecular biology of cancer / J.S. Bertram // *Molecular aspects of medicine.* – 2000. – Vol. 21. – P. 167–223.
3. Козарезова, Т.И. Апластические анемии и миелодиспластический синдром у детей РБ (эпидемиология, этиология, молекулярно-мембранные механизмы патогенеза): автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.09, 14.00.29/ Т.И. Козарезова; 2-й Московский государственный медицинский институт. – Москва, 1995. – 43 с.
4. Guyton, K.Z. Oxidative mechanisms in carcinogenesis / K.Z. Guyton, T.W. Kensler // *British medical bulletin.* – 1993. – Vol. 49. – P. 523–544.
5. Биологические критерии реализации сигнала апоптоза при острых лейкозах и миелодиспластических синдромах у детей / Н.Н. Климович [и др.] // Сб. научных статей «Новое в гематологии и трансфузиологии». – Киев. – 2008. – С. 50–54.
6. Клетки периферической крови ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС после пятилетнего наблюдения / Г.И. Козинец [и др.] // *Гематология и трансфузиология.* – 1993. – Т.38, № 9. – С. 35–38.
7. Иммунофенотип и биофизические параметры поверхностных мембран лимфоцитов периферической крови у больных гепатоцеллюлярным раком / А.А. Умарова [и др.] // *Гепатиты в практике терапевта, семейного врача и инфекциониста: М-лы науч.-прак.конфер.с междунар. участ.* – Харьков, 2003. – С. 259–264.
8. Is the glutathione S-conjugate pump a flippase? / A. Sokal [et al.] // *Biochem. Mol. Biol. Int.* – 1998. – Vol. 44. – N 1. – P. 97–105.
9. Phase fluctuation in phospholipid membranes revealed by laurdan fluorescence / T. Parasassi [et al.] // *Biophys. J.* – 1990. – Vol. 57. – P. 1179–1186.
10. Myelodysplastic syndromes/neoplasms, overview / R.D. Brunning [et al.] // In: *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues* / Ed by S.H. Swerdlow [et al.] / Lyon: IARC. – 2008. – Vol. 2. – P. 88–93.