

осложнениями ХЛЛ отмечено восстановление гемоглобина и тромбоцитов в течение лечения, эффект лечения оказался длительным. Наиболее эффективным лечение оказалось у больных без выраженной лимфоаденопатии.

В случае наличия у пациентов лимфоаденопатии (наибольший размер лимфоузлов > 2 см в диаметре) принималось решение о назначении курсов FluCamp и Camp+FC. Количество курсов терапии составило от 2-х до 8-ми. У всех пациентов отмечались аллергические реакции в месте инъекции алемтузумаба, повышение температуры тела до 38 °С. Тромбоцитопения и глубокая нейтропения не наблюдалась ни у одного больного. Из 15 пациентов у 2 (13 %) получена клиничко-гематологическая и иммунофенотипическая ремиссия, продолжительность которой составляла 12 и 19 мес.; частичный эффект отмечался у 11 (74 %) пациентов, у 2-х (13 %) — эффекта не было. Лечение пациенты переносили хорошо, большинство больных не нуждались в госпитализации в круглосуточный стационар. Количество курсов терапии зависело от эффективности терапии, а также от наличия или отсутствия инфекционных осложнений. В течение терапии у 4 (26 %) больных развилась острая пневмония, у 1-й пациентки — генерализованная герпетическая инфекция.

Заключение

1. Лечение пациентов с ХЛЛ с использованием алемтузумаба является эффективным как

в монотерапии, так и в сочетании с химиотерапевтическими препаратами.

2. При наличии у пациента лимфоаденопатии следует отдавать предпочтение сочетанию алемтузумаба с химиопрепаратами.

3. С осторожностью следует применять алемтузумаб у пациентов с частыми инфекционными осложнениями и не применять при наличии активной вирусной инфекции (герпес, цитомегаловирус и т. п.).

4. Подкожное введение алемтузумаба является наиболее приемлемым, т. к. снижает количество системных побочных эффектов и позволяет применять препарат амбулаторно.

5. Алемтузумаб может быть назначен пациентам с ХЛЛ при любой стадии заболевания, при наличии аутоиммунных осложнений, а также при наличии химиорезистентности к ранее проведенной химиотерапии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Phase II trial of subcutaneous anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Campath-1H) as first-line treatment for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) / J. Lundin // *Blood*. — 2002. — Vol. 100 (3). — P. 768–773.
2. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patient, who have failed fludarabine: results of a large international study / M. J. Keating // *Blood*. — 2002. — Vol. 99. — P. 3554–3561.
3. Eradication of minimal residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival / P. Moreton [et al.] // *J. Clin. Oncol.* — 2005. — Vol. 23. — P. 2971–2979.
4. Campath-1H and fludarabine in combination are highly active in refractory chronic lymphocytic leukemia / B. Kennedy [et al.] // *Blood*. — 2002. — Vol. 99. — P. 2245–2247.

УДК 616.438:615.849.5

ИЗМЕНЕНИЙ ТОПОЛОГИИ ТИМОЦИТОВ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА ТИМУСА В БЛИЖАЙШИЕ СРОКИ ПОСЛЕ ОБЛУЧЕНИЯ

И. А. Никитина, А. И. Грицук

Гомельский государственный медицинский университет, г. Гомель

Проведенный на белых крысах эксперимент показал, что острое воздействие ионизирующего излучения в дозе 1 Гр приводит к существенному снижению уровня энергетического метаболизма и изменению таких морфологических параметров тимоцитов, как размер клетки, индекс объема и плотность структурных элементов на ее поверхности. На десятые сутки наблюдается частичное восстановление морфологических признаков, но митохондриальное дыхание продолжает оставаться в угнетенном состоянии.

Ключевые слова: тимоциты, ионизирующее излучение, тканевое дыхание.

CHANGES IN THYMOCYTE TOPOLOGY AND INDICES OF THYMUS ENERGETIC EXCHANGE AT THE EARLIEST TERM AFTER IRRADIATION

I. A. Nikitina, A. I. Gritsuk

Gomel State Medical University, Gomel

The experiment that had been carried out on rats showed that acute exposure of ionizing radiation at a dose of 1 Gy led to a significant decrease of the level of energetic metabolism and change of such morphological parameters of thymocytes as a cell size, dimension index and density of structural elements on it surface. On the tenth day a partial restoration of the morphological features was observed but mitochondrial respiration stays in a depressed state.

Key words: thymocytes, ionizing radiation, tissue respiration.

Введение

Научно-технический прогресс сопровождается все более широким использованием ионизирующего излучения в различных сферах деятельности человека. В этих условиях возрастает риск появления различного рода инцидентов, а значит, увеличивается число людей, которые могут быть вовлечены в аварийные ситуации. Так, по данным статистики, в течение последних десятилетий за год происходит до четырех аварийных ситуаций, приводящих в среднем к одному случаю с фатальными последствиями и к 5–6 серьезным клиническим последствиям для пострадавших [1].

Ввиду высокой радиочувствительности иммунной системы, многие проявления радиационного поражения организма прямо или косвенно связаны с нарушениями в иммунной системе. Необходимо отметить, что воздействие ионизирующего излучения приводит не только к нарушению иммунных функций, но и к изменению общей морфологии лимфоцитов, включая их топологию [2]. Изменение клеточной поверхности во многом обусловлено особенностями механических свойств мембран иммунных клеток. Одной из причин данного явления может быть радиационно-индуцированная активация процессов перекисного окисления липидов, приводящая к заметному возрастанию вязкости мембран. В результате нарушения клеточного гомеостаза изменяется проницаемость мембран, возрастает выход кальция из клеток. Для возврата клеточной системы в исходное состояние требуются большие затраты энергии, что увеличивает нагрузку на систему митохондриального окисления.

Следует указать, что процессы тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования являются интегральным показателем состояния клетки. Они характеризуют не только метаболизм, но и состояние мембран, поэтому анализ функциональной активности митохондрий способен указать на основные нарушения, происходящие при негативном внешнем воздействии.

Для дальнейшего исследования механизмов развития и степени выраженности патологических процессов в иммунной системе при воздействии ионизирующего излучения целесообразным является анализ состояния поверхностных структур лимфоцитов и выявление функциональных изменений в митохондриях. Анализ взаимосвязи структурных и функциональных изменений клеток тимуса после облучения поможет глубже понять основные механизмы развития процессов клеточной патологии в организме, подвергнувшись радиационной нагрузке.

Цель исследования

Оценить влияние внешнего острого ионизирующего облучения на биохимические показатели тканевого дыхания вилочковой железы и морфологию тимоцитов крыс.

Материалы и методы исследования

При проведении исследований соблюдались все требования Европейской Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (18.03.1986, пересмотр. 02.12.2005, Страсбург) и Директивы 86/609/ЕЕС «Защита животных, используемых в научных целях» (в редакции от 05.05.2009, Страсбург).

Экспериментальные животные — белые, беспородные крысы-самцы массой 200–230 г, содержались на стандартном рационе. Рандомизированным отбором сформировано две группы животных: опытная ($n = 10$) и контрольная ($n = 5$). Опытную группу животных подвергли однократному общему γ -облучению на установке «ИГУР-1», источник ^{137}Cs в дозе 1 Гр, мощность дозы — 0,92 Гр/мин.

Анализ состояния клеток тимуса проводили на 3 и 10-е сутки после облучения согласно [3]. Исследования тимоцитов на атомно-силовом микроскопе (АСМ) «НТ-206» («Микро-ТестМашина», Беларусь) и обработку полученных данных осуществляли согласно [4].

Полученные данные проанализированы на соответствие распределения нормальному закону с использованием критерия хи-квадрат Пирсона. Данные, подчиняющиеся нормальному закону, представлены в виде 95 % доверительного интервала ($m \pm \Delta m$, n — размер выборки), а сравнение средних осуществлялось с помощью t -критерия Стьюдента. Остальные данные представлены медианой и границами верхнего и нижнего квартилей. Сравнение выборок проводили с помощью критерия Манна-Уитни. Различия признавались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Уровень энергетического метаболизма является интегральным показателем, отражающим общее состояние метаболизма и функциональную активность клеток, поскольку все клеточные функции энергозависимы, а сами митохондрии тесно взаимодействуют с цитоскелетом и другими органеллами.

Уровень дыхания тимоцитов животных контрольной группы на эндогенных субстратах составил: 6,5; 5,2–8,0 нмоль O_2 /мин на 1 мг белка. Довольно высокий уровень дыхания ассоциируется с высокой пролиферативной активностью тканей тимуса.

Ионизирующее излучение в дозе 1 Гр оказывает сильное влияние на дыхательную активность тимуса. На 3-е сутки после облучения скорость тканевого дыхания снижается более чем на треть и составляет 4,3; 3,4–4,9 нмоль O_2 /мин на 1 мг белка ($p < 0,05$ в сравнении с контролем). К 10-м суткам уровень тканевого дыхания остается значимо ниже контрольных значений и не отличается от показателей на 3 сутки.

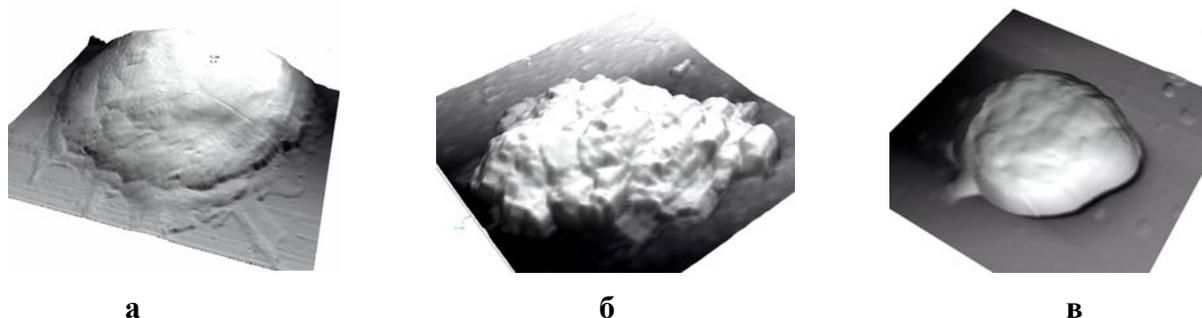
Полученные с помощью АСМ, трехмерные изображения адгезированных к подложке (стеклянной пластинке) интактных тимоцитов (рисунок 1а) выявляют куполообразную форму этих клеток. Поверхность клеток относительно ровная и гладкая.

Для большинства тимоцитов в области контакта с подложкой хорошо различимы ламеллоподии, тонкие, листовидные выпячивания, каркасом которых служат трехмерные сети филаментов. Увеличение времени адгезии приводит к появлению в этой зоне единичных пальцеобразных структур — филоподий.

Воздействие ионизирующего облучения в дозе 1 Гр приводит к изменению ряда морфологических показателей тимоцитов (рисунок 1а и 1б). Так, на 3-е сутки после облучения (таблица 1) происходит уменьшение размаха высот клеток в пределах 95 % вариации (более чем в 2 раза) и их диаметра. Кроме этого уменьшается объем тимоцитов и форма клеток. На их поверхности появляются выраженные неровности.

К 10-м суткам после облучения в тимусе активируются процессы восстановительного постлучевого лимфоцитопозза, в котором принимают участие популяция относительно радиоустойчивых тимоцитов. По ряду признаков (рисунок 1в) тимоциты на 10-е сутки после облучения сходны с контрольными клетками, но есть и отличия. Так, высота и диаметр (таблица) тимоцитов крысы на 10-е сутки после облучения возрастают (в сравнении с 3-ми сутками) и достигают значений контрольных тимоцитов. В тоже время объем клеток, хотя и возрастает, но не достигает контрольных значений и остается достоверно более низким.

Индекс объема тимоцитов (отношение объема к площади поверхности клеток) резко уменьшается на 3-е сутки после облучения. Это может служить свидетельством увеличения удельных обменных потоков (вещество, энергия, информация) между клеткой и окружающей средой.



а

б

в

Рисунок 1 — Изображение тимоцитов крысы (режим топографии (topography), область сканирования 9×9 мкм), полученное на атомно-силовом микроскопе:

а — внешний вид интактного тимоцита; б — тимоцит крысы на 3-е сутки после острого γ -облучения; в — тимоцит крысы на 10-е сутки после острого γ -облучения

Таблица 1 — Характеристики поверхности контрольных и облученных тимоцитов, полученные в режиме сканирования (топографии)

Параметры	Контроль	3 сутки после облучения	10 сутки после облучения
Размаха высот клеток в пределах 95 % вариации, мкм	2,01 ± 0,10	0,78 ± 0,31*	1,73 ± 0,31**
Диаметр, мкм	7,81 ± 0,78	6,17 ± 1,02*	7,44 ± 2,34
Объем, мкм ³	66,02 ± 11,44	16,61 ± 8,20*	50,12 ± 13,20* **
Индекс объема	0,57 ± 0,03	0,22 ± 0,06*	0,56 ± 0,13**
Число пиков на 1 мкм ² поверхности, шт.	1,44 ± 0,75	1,23 ± 0,20*	0,12 ± 0,06*

Примечание: индекс объема — отношение объема клетки к площади ее поверхности.

Данные представлены в виде среднего выборочного и границы 95 % доверительного интервала (n = 8–10); *p < 0,05 по сравнению с контролем, ** p < 0,05 по сравнению с 3-ми сутками (t-критерий Стьюдента)

Заключение

1. Воздействие ионизирующего излучения в дозе 1 Гр вызывает существенное снижение дыхательной активности тканей тимуса крыс, сохраняющееся вплоть до 10 суток после радиационной нагрузки.

2. Одновременно с этим наблюдается изменение морфологических характеристик тимоцитов: значительно уменьшается индекс объема кле-

ток, что свидетельствует об увеличении удельных обменных потоков между клеткой и окружающей ее средой. К 10-м суткам отмечается частичное восстановление морфологии тимоцитов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Котенко, А. В. Радиационные аварии третьего тысячелетия в России (2000–2007 гг.) с развитием острых лучевых поражений / А. В. Котенков, А. Ю. Бушманов // Вестник Российской военно-медицинской академии. — 2008. — № 3 (23). — С. 39–48.

2. Кудряшов, Ю. Б. Основы радиационной биофизики / Ю. Б. Кудряшов, Б. С. Беренфельд. — М.: Московский университет, 1982. — 305 с.

3. Никитина, И. А. Количественная оценка клеточной поверхности в АСМ-анализе / И. А. Никитина, А. Н. Никитин, А. И. Грицук // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Рес-

публиканской научно-практической конф., посв. 20-летию Гомельского государственного медицинского университета. — Гомель: ГомГМУ. — 2011. — Т. 3. — С. 99–102.

4. Никитина, И. А. Особенности тканевого дыхания тимуса крыс в различные сроки после воздействия гамма-излучения / И. А. Никитина // Проблемы здоровья и экологии. — 2011. — № 1(27). — С. 102–106.

УДК 616.155.1+616.155.194

РОЛЬ АКВАПОРИН-ЗАВИСИМЫХ МЕМБРАНОТРАНСПОРТНЫХ МЕХАНИЗМОВ В РЕГУЛЯЦИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ АНЕМИЯХ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Ж. В. Пешняк¹, Г. А. Шпак¹, Л. А. Смирнова², В. В. Рачицкая¹, А. Л. Трухан²,
Ю. В. Устинович¹, Е. М. Тумар¹, З. И. Кравчук¹

¹Республиканский научно-практический центр гематологии и трансфузиологии, г. Минск
²Белорусская медицинская академия последипломного образования, г. Минск

Изучено участие аквапорина-1 (AQP-1) в регуляции структурно-метаболических свойств эритроцитов при анемиях различного генеза.

Установлено, что у пациентов с железодефицитной анемией (n = 6) наблюдается снижение скорости агрегации эритроцитов на 36 % по сравнению с контрольной группой (n = 12). Ингибирование AQP-1 и совместное подавление AQP-1 и фосфолипаза-зависимых мембранных механизмов приводит к повышению скорости агрегации эритроцитов до уровня в контрольной группе. Полученные результаты свидетельствуют об участии AQP-1 в регуляции структурно-функциональных свойств эритроцитов у пациентов с анемиями.

Ключевые слова: аквапорин-1, эритроциты, средний объем эритроцита, средняя концентрация гемоглобина, агрегационная активность эритроцитов, анемия.

ROLE OF AQUAPORIN-DEPENDENT MEMBRANE-TRANSPORT MECHANISMS IN THE REGULATION OF ERYTHROCYTE STRUCTURAL FUNCTIONAL CHARACTERISTICS IN ANEMIAS OF VARIOUS GENESIS

Zh. V. Peshnyak¹, G. A. Shpak¹, L. A. Smirnova², V. V. Rachitskaya¹,
A. L. Truhan², Yu. V. Ustinovich¹, E. M. Tumar¹, Z. I. Kravchuk¹

¹Republican Research Center for Hematology and Transfusiology, Minsk
²Belarussian Medical Academy for Postgraduate Education, Minsk

The participation of aquaporin-1 (AQP-1) in the regulation of erythrocyte structural metabolic features in anemias of various genesis has been studied.

It has been ascertained that the patients with siderotic anemia (n = 6) have a 36 per cent decrease in the erythrocyte aggregation speed in comparison with the control group (n = 12). AQP-1 inhibition and AQP-1 combined suppression and phospholipase-dependent membrane mechanisms lead the increase in the erythrocyte aggregation speed till the level of the control group. The received results are evidence of AQP-1 participation in the regulation of erythrocyte structural metabolic features in the patients with anemias.

Key words: aquaporin-1, erythrocytes, mean corpuscular volume, mean hemoglobin concentration, erythrocyte aggregation activity, anemia.

Введение

С открытием в начале 1990-х американским гематологом Р. Агре в мембранах эритроцитов водно-специфического белкового транс-мембранного канала с молекулярной массой 28 кДа (названного впоследствии аквапорин-1 или AQP-1) существенно изменились представления о перемещении воды через клеточные мембраны [3]. В настоящее время активно изучается роль аквапоринов в газообмене и регуляции проницаемости мембран [2, 4]. AQP-1 эритроцитов участвуют в газообмене до 60 % углекислого газа

[5, 6] и обеспечивают до 100 % их водного обмена с внешней средой [2]. До сих пор мало изучены механизмы регуляции функциональной активности AQP-1 в эритроцитах. Практический интерес представляет также изучение роли AQP-1 в регуляции структурно-функционального статуса эритроцитов при анемическом синдроме [1].

Цель исследования

Изучение роли AQP-1 в регуляции структурно-метаболических свойств эритроцитов при анемиях различного генеза.