

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, подвергшемся 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  $\gamma$ -облучению на установке «ИГУР-1», источник  $^{137}\text{Cs}$  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  $\text{O}_2$ /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  $\text{O}_2$ /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.

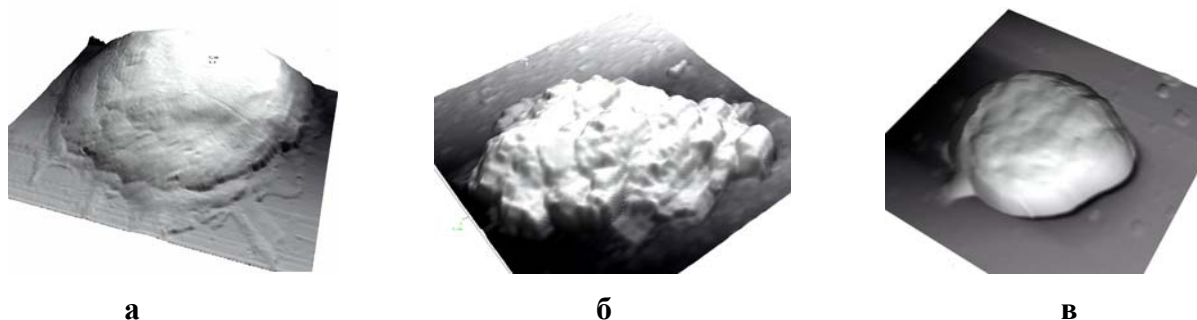
Полученные с помощью АСМ, трехмерные изображения адгезированных к подложке (стеклянной пластинке) интактных тимоцитов (рисунок 1а) выявляют куполообразную форму этих клеток. Поверхность клеток относительно ровная и гладкая.

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  $\gamma$ -облучения; в — тимоцит крысы на 10-е сутки после острого  $\gamma$ -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 <sup>3</sup>	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 <sup>2</sup> 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. Пешняк<sup>1</sup>, Г. А. Шпак<sup>1</sup>, Л. А. Смирнова<sup>2</sup>, В. В. Рачицкая<sup>1</sup>, А. Л. Трухан<sup>2</sup>,  
Ю. В. Устинович<sup>1</sup>, Е. М. Тумар<sup>1</sup>, З. И. Кравчук<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Республиканский научно-практический центр гематологии и трансфузиологии, г. Минск  
<sup>2</sup>Белорусская 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. Peshnyak<sup>1</sup>, G. A. Shpak<sup>1</sup>, L. A. Smirnova<sup>2</sup>, V. V. Rachitskaya<sup>1</sup>,  
A. L. Truhan<sup>2</sup>, Yu. V. Ustinovich<sup>1</sup>, E. M. Tumar<sup>1</sup>, Z. I. Kravchuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Republican Research Center for Hematology and Transfusiology, Minsk  
<sup>2</sup>Belarussian 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.