

# СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ИЗМЕНЕНИИ КОНЦЕНТРАЦИИ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ

Хотина В.А.<sup>1</sup>, Наквасина М.А.<sup>2</sup>



<sup>1</sup>Хотина Виктория Александровна – магистрант,  
направление: биофизика;

<sup>2</sup>Наквасина Марина Александровна – доктор биологических наук, профессор,  
кафедра биофизики и биотехнологии, медико-биологический факультет,  
Воронежский государственный университет,  
г. Воронеж

**Аннотация:** изучена роль внеклеточного кальция в регулировании структурно-функциональных свойств лимфоцитов человека. Показана взаимосвязь между изменением метаболических процессов, поверхностной архитектоники и реализацией клеточной гибели лимфоцитов по механизму апоптоза.

**Ключевые слова:** лимфоциты, кальций, ферменты, клеточный метаболизм, апоптоз, спектрофотометрия, проточная цитофлуориметрия, сканирующая электронная микроскопия.

Кальций является одним из важнейших регуляторов структурно-функционального состояния клеток: участвует в процессах мембранного транспорта, передачи информации в клетку, межклеточной коммуникации, клеточной гибели.

С целью расширения представлений о роли внеклеточного кальция в регулировании структурно-функциональных свойств иммунных клеток исследовано его влияние на уровень активности ряда ключевых ферментов, метаболический индекс, структурное состояние плазматических мембран, процессы гибели лимфоцитов периферической крови человека, экспрессия Fas-рецепторов плазматических мембран и поверхностная архитектура клеток. В исследовании использовались методы спектрофотометрии, электронной микроскопии и проточной цитофлуориметрии.

Выявлено, что в среде без содержания кальция и среде с избытком кальция (13 ммоль/л) происходят значительные изменения метаболических процессов (снижение уровня РНК, активности лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, глутатионредуктазы; повышение уровня активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы), жизнеспособности и состояния поверхности лимфоцитов по сравнению с таковыми для клеток в присутствии кальция в нормальной концентрации (1,3 ммоль/л).

Эти нарушения индуцируют запуск процессов гибели лимфоцитов в условиях дефицита и избытка кальция преимущественно по механизму апоптоза и в меньшей степени — некроза. По всей вероятности, «критическими точками» в запуске процессов клеточной гибели лимфоцитов в условиях избытка внеклеточного кальция является активация комплекса кальций—кальмодулин [2, с. 4], участвующего в запуске сигнальных путей апоптоза, активация каналов (зависимых от уровня кальция) в митохондриальной мембране, обеспечивающая выход проапоптогенных факторов в цитозоль, и вход кальция в ядро с активацией эндонуклеаз.

Падение уровня АТФ, восстановленного глутатиона, интенсификация свободно-радикальных реакций в условиях снижения уровня РНК, активности сукцинатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы и глутатионредуктазы вносят вклад в изменение состояния митохондрий и реализацию митохондриального пути апоптоза.

Методом сканирующей электронной микроскопии [3, с. 64] в средах с дефицитом и избытком кальция обнаружены апоптотические клетки с характерными чертами округления. С помощью метода проточной цитофлуориметрии [1, с. 1548] не были выявлены изменения уровня экспрессии Fas-рецепторов на поверхности лимфоцитов, суспендированных в растворах Хенкса без кальция и с избытком  $\text{Ca}^{2+}$ , по сравнению с таковым для клеток с нормальным содержанием кальция.

На основании исследований мы можем заключить, что в условиях дефицита и избытка экзогенного кальция индуцируется запуск процессов апоптоза лимфоцитарных клеток, реализующихся не с участием Fas-рецепторов и каспазы-12 эндоплазматического ретикулума, а по другим путям (возможно, митохондриальному, а также с участием протеинкиназы C).

#### ***Список литературы***

1. *Cifone M.G.* Apoptotic signaling through CD95 (Fas/Apo-1) activates an acidic sphingomyelinase // *The Journal of Experimental Medicine*, 1994. № 4 (180). P. 1547-1552.
2. *Duchen M.R.* Contributions of mitochondria to animal physiology: from homeostatic sensor to calcium signaling and cell death // *The Journal of Physiology*, 1999. № 1 (506). P. 1-17.
3. *Fischer E.R.* Scanning Electron Microscopy // *Current Protocols in Microbiology*, 2012. № 2 (25). P. 2-77.