

# МОРФОЛОГИЯ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ И РОЛЬ ДЛИНЫ МИКРОТРУБОЧЕК В ПОДВИЖНОСТИ ЛИМФОЦИТОВ, ТРАНСФОРМИРОВАННЫХ МИТОГЕНАМИ

Сладкова Е.А.

*ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный  
исследовательский университет», г. Белгород  
e-mail: evgenija-sladkova00@rambler.ru*

Трансформированные лимфоциты отличаются от нормальных морфологией и организацией цитоскелета, что проявляется в нарушении их подвижности. Согласно современным данным, главную роль в определении локомоторного поведения играет динамическое взаимодействие двух основных систем цитоскелета – микротрубочек (МТ) и актин-миозиновой системы [1]. Кроме того, исследователи отмечают, что для понимания механизмов клеточной подвижности важное значение имеет характеристика поверхностных структур клеток [2].

**Цель исследования** – изучить морфологию клеточной поверхности и выявить взаимосвязь длины микротрубочек с подвижностью лимфоцитов, трансформированных фитогемагглютинином (ФГА) и конкановалином А (Кон А).

**Материалы и методы.** Эксперимент выполнен на базе НИЛ «Физиологии адаптационных процессов» кафедры анатомии и физиологии живых организмов НИУ «БелГУ». Объект исследования – лимфоциты здоровых доноров. Клетки инкубировали в течение 48 ч при 37° С в среде RPMI-1640, содержащей HEPES-буфер, глютамин, бензилпенициллина натриевую соль (90 ед/мл) и канамицина сульфат (0,09 мг/мл). В первой серии эксперимента лимфоциты культивировали в среде с добавлением ФГА в концентрации 0,05 мкг/мл, во второй – в среде с Кон А (0,05 мкг/мл). Контролем служили клетки, инкубированные в питательной среде без митогенов. Морфологию поверхности лимфоцитов изучали на сканах участков поверхности размером 3x3 мкм, полученных с помощью АСМ (Интегра Вита) в полуконтактном режиме. Строили кривые профиля поверхности клеток, на которых измеряли линейные размеры глобулярных образований и инвагинаций плазмалеммы лимфоцитов. Микротрубочки лимфоцитов изучали на цитологических препаратах, приготовленных по методу Гейденгайда в модификации Ясвоина [3]. Длину пучков микротрубочек измеряли с



помощью аппаратно-программного комплекса визуализации изображения «ВидиоТест-МастерМорфология». Для исследования подвижности лимфоцитов применяли капиллярный способ учета миграции клеток по методу Новикова [4]. Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием *t*-критерия Стьюдента.

**Результаты.** В результате проведенных экспериментов установлено, что общим для лимфоцитов, активированных ФГА и Кон А, является снижение высоты и ширины глобулярных образований на клеточной поверхности соответственно на 11, 16 % ( $p < 0,05$ ), и 60 % ,85 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с лимфоцитами в контроле. Глубина инвагинаций плазмалеммы клеток, инкубированных в среде с добавлением ФГА, увеличивалась на 18,7 % ( $p < 0,05$ ), в среде с Кон А – на 41,7 % по сравнению с контролем. В активированных и контрольных клетках выявлена сеть микротрубочек, расходящаяся от ядра. Пучки микротрубочек представляли собой прямые или извитые структуры, располагающиеся плотным скоплением в околядерной зоне. Напротив, по периферии цитоплазмы были локализованы отдельно лежащие пучки. В лимфоцитах, стимулированных митогенами, зафиксирована меньшая плотность сети микротрубочек в цитоплазме по сравнению с контролем. Длина отдельных пучков микротрубочек в лимфоцитах, активированных ФГА и Кон А, снижалась на 7 и 31,2 % ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с клетками в контроле. В результате анализа миграции клеток установлено, что при воздействии ФГА и Кон А количество лимфоцитов, вышедших из капилляров снизилось на 37,5 % и 69 % ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с контролем.

Установлены различия в степени подвижности, длине пучков микротрубочек и морфологии поверхности лимфоцитов между клетками, стимулированными ФГА и КонА. Высота и ширина глобулярных образований плазмалеммы клеток, активированных Кон А, уменьшалась на 6 и 63,6 % ( $p < 0,05$ ), а глубина инвагинаций увеличивалась на 28 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с размерами структур на поверхности лимфоцитов, инкубированных в среде с ФГА. Длина пучков микротрубочек лимфоцитов после воздействия Кон А снижалась на 7 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с клетками, стимулированными ФГА. Количество клеток, мигрировавших из капилляров, после инкубации с Кон А уменьшалось на 45 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с клетками инкубированными с ФГА.



**Выводы.** Выявлено снижение размеров глобулярных образований, увеличение глубины инвагинаций плазмалеммы и уменьшение длины пучков микротрубочек лимфоцитов, стимулированных митогенами, что сопровождалось снижением подвижности клеток. Локомоторное поведение лимфоцитов изменялось в большей степени при воздействии Кон А. Не исключено, что установленные изменения в системе микротрубочек являются следствием нарушения механизмов динамической нестабильности плюс-концов филаментов цитоскелета [5]. Преобразование клеточной поверхности в сторону увеличения складчатости, т.е. возрастание глубины инвагинаций в условиях торможения миграции связано с изменением ультраструктуры актиновой сети, уменьшением числа и размера фокальных контактов [2], что препятствует образованию протрузий клеточного края.

### Литература

1. Ломакина М.Е. Изменения актинового цитоскелета и динамика клеточного края, определяющие характер клеточной миграции при трансформации фибробластов: Автореф. дис. ... канд биол. наук. М., 2011. 26 с.
2. Воробьев И.А., Малый И.В. Об отношении длины и динамики микротрубочек: краевой эффект и свойства протяженной радиальной сети // Цитология. 2008. № 6 (50). С. 477 – 486.
3. Ченцов Ю.С., Воробьев И.А. Простой способ выявления центриолей и цитоскелета в клетках культуры ткани с помощью светового микроскопа // Цитология 1982 № 3 (34). С. 127 – 138.
4. Меньшиков И.В., Бедулева Л.В. Основы иммунологии. Лабораторный практикум. Ижевск: Удмуртский университет, 2001. 136 с.
5. Morrison E. E. Action and interactions at microtubule ends // Cell Mol Life. 2007. № 64 P 307 – 317.