

## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКТИНОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТАВА УГЛЕВОДОВ ПОВЕРХНОСТНОГО АППАРАТА ТИМОЦИТОВ МЫШИ НА РАННИХ И ПОЗДНИХ СТАДИЯХ АПОПТОЗА

© 2020 г. М. К. Серебрякова<sup>1</sup>, И. В. Кудрявцев<sup>1</sup>, Э. Балкан<sup>2</sup>, А. В. Полевщиков<sup>1</sup>. \*

<sup>1</sup>Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, 197376 Россия

<sup>2</sup>Лаборатория молекулярной биологии Университета Джелал Баяр, Маниса, 45030 Турция

\*E-mail: ALEXPOL512@yandex.ru

Поступила в редакцию 27.05.2020 г.

После доработки 12.06.2020 г.

Принята к публикации 13.06.2020 г.

Процесс апоптоза является важным элементом созревания и дифференцировки Т-лимфоцитов. Работа посвящена анализу изменений состава олигосахаридов гликокаликса тимоцитов мышей линии СВА в ходе апоптоза, индуцированного введением гидрокортизона. Использована панель из 23 меченных флуоресцеинизотиоцианатом лектинов, специфичных к маннозе, маннозе и глюкозе, галактозе, N-ацетил-D-галактозамину, N-ацетил-D-глюкозамину, фукозе и остаткам N-ацетилнейраминной кислоты. Методом проточной цитометрии оценивали связывание лектинов с тимоцитами интактных мышей и мышей после введения гидрокортизона. На основании результатов окрашивания метиловым эфиром тетраметилродамина и 7-аминоактиномицином D клетки были разделены на живые тимоциты и тимоциты в раннем и позднем апоптозе. Результаты указывают на неодинаковую плотность и гетерогенность олигосахаридов в гликокаликсе, значительная часть которых утрачивается уже в раннем апоптозе. Живые клетки несут во внешних структурах гликокаликса углеводы, содержащие в концевом положении остатки галактозы и N-ацетил-D-галактозамина. При переходе тимоцитов в поздний апоптоз усиливается связывание всех лектинов, кроме специфичного к фукозе. Примембранный слой гликокаликса отличается высокой плотностью и большим разнообразием олигосахаридных структур, сохраняющихся на стадии позднего апоптоза тимоцитов.

**Ключевые слова:** тимоциты, апоптоз, лектины, углеводы гликокаликса

DOI: 10.31857/S0041377120090059

Процесс созревания и дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе протекает в непосредственном контакте тимоцитов разной степени зрелости с клетками стромы. От момента переноса в тимус стволовой CD34<sup>+</sup>-клетки (общего предшественника лимфоидного ряда) и до выхода из тимуса наивных CD4<sup>+</sup>-Т-хелперов и CD8<sup>+</sup> цитотоксических Т-лимфоцитов все этапы созревания и дифференцировки тимоцитов протекают в ассоциации с клетками-мишенями, составляющими основу кортикального тимического эпителия, и дендритными клетками и макрофагами медуллы. Гликокаликс мембраны тимоцитов принимает непосредственное участие в процессах их распознавания адгезионными молекулами клеток стромы тимуса и макрофагами, отвечающими за элиминацию погибающих в ходе селек-

ции тимоцитов. Причиной гибели тимоцитов является запуск в них апоптоза — механизма, играющего ключевую роль в удалении Т-клеток, не прошедших позитивный или негативный этапы селекции.

Уровень апоптоза в тимусе является одним из важных показателей процессов, происходящих во время дифференцировки тимоцитов. В ходе последовательных этапов селекции, связанной прежде всего с формированием сначала β-, а затем α-цепи Т-клеточного рецептора элиминируется по некоторым оценкам до 95% незрелых тимоцитов (Старская, Полевщиков, 2013). Считается, что не более 5% от числа незрелых дважды позитивных (CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>) клеток имеет шанс перейти в состояние зрелых SP-timoцито- (single positive cells CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup> или CD4<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>) и переместиться в медуллу с последующим выходом в кровоток (Palmer, 2003). Это утверждение косвенно подтверждается данными о крайне низком количестве зрелых Т-клеток, выходящих из тимуса на периферию, на фоне высокого пролиферативного потенциала тимоцитов на разных стадиях их созревания (Scollay et al., 1980; Egerton et al., 1990).

**Принятые сокращения:** 7AAD — 7-аминоактиномицин D; DP — незрелые тимоциты с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (double positive cells); NANA — N-ацетилнейраминная кислота; SP — зрелые CD4<sup>+</sup>- или CD8<sup>+</sup>-timoциты (single positive cells); TMRM — тетраметилродамин.