

Ю.В. Яніш
С.П. Залеток
О.О. Кленов
В.В. Бентрад
Т.С. Іванівська

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, Київ, Україна

Ключові слова: лімфоцити, В-клітинний хронічний лімфоїдний лейкоз, гострий мієлоїдний лейкоз, гострий лімфобластний лейкоз, В-клітинна лімфома з клітин мантійної зони, ζ -потенціал, сумарний поверхневий заряд.

ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЛЕЙКЕМІЧНИХ КЛІТИН

Мета: дослідити та порівняти електрокінетичні властивості мононуклеарів і В-лімфоцитів периферичної крові (ПК) практично здорових людей та пацієнтів зі злякисними новоутвореннями кровотворної та лімфоїдної тканин. **Об'єкт і методи:** в дослідженні використано зразки ПК 25 (15 чоловіків, 10 жінок) пацієнтів з різними формами онкогематологічних захворювань, у віковому діапазоні від 40 до 73 років. З В-клітинним хронічним лімфоїдним лейкозом (В-ХЛЛ) — 8 осіб; 12 — з гострим мієлоїдним лейкозом (ГМЛ) на різних стадіях перебігу захворювання (М1 — 2, М4 — 2 і М5 — 8); 2 — з гострим лімфобластним лейкозом (ГЛЛ); 3 — з В-клітинною лімфомою з клітин мантійної зони (В-МКЛ). Мононуклеари виділяли із ПК на градієнті щільності фікол-верографіну, В-лімфоцити — з використанням методу розеткоутворення. Визначали електрокінетичні показники (значення ζ -потенціалу та щільність сумарного поверхневого заряду (СПЗ)) за лінійною швидкістю руху клітин в електричному полі, використовуючи прийняті в таких дослідженнях рівняння). **Результати:** В-лімфоцити практично здорових донорів мають достовірно вищі значення ζ -потенціалу та від'ємного СПЗ, ніж лімфоцити хворих на В-МКЛ і навіть бластні клітини ПК пацієнтів із ГМЛ. Електрокінетичні характеристики лімфоцитів ПК пацієнтів із діагнозом В-ХЛЛ не відрізнялися статистично суттєво від характеристик загального пулу мононуклеарів практично здорових людей, але були достовірно меншими порівняно з показниками В-лімфоцитів. Показано різницю в електрокінетичних характеристиках бластів, відмінних за рівнем диференціювання, які походять із різних кровотворних клітин-попередників при ГМЛ М1 і ГМЛ М5. Бластні клітини без ознак дозрівання (ГМЛ М1) мають у 1,5 раза більші ζ -потенціал та від'ємний СПЗ, ніж бласти при ГМЛ М5. Для лімфоцитів ПК пацієнтів із діагнозом В-ХЛЛ та ГМЛ М5 виявлений одномодальний профіль розподілу за ζ -потенціалом. Аналіз розподілу за ζ -потенціалом лімфоцитів ПК пацієнтів із В-МКЛ демонструє тенденцію до виникнення бімодального профілю частотного розподілу клітин за ζ -потенціалом, що може бути результатом процесу лейкемізації лімфоми. **Висновок:** показана можливість використання електрокінетичних параметрів як додаткового джерела інформації про стан поверхні злякисно трансформованих клітин новоутворень кровотворної та лімфоїдної тканин.

Плазматична мембрана живої клітини має складне аранжування як численними структурними полімерами, що несуть власний заряд, так і неорганічними іонами, залученими до перебігу трансмембранних процесів. Вкрита шаром глікокаліксу, подекуди доволі потужним, вона несе на собі велику кількість молекул, заряджених як позитивно, так і негативно. Величину сумарного поверхневого заряду (СПЗ) і його знак зумовлює суперпозиція зарядів всіх молекул клітинної поверхні. За переваги аніонів він є негативним, що найчастіше і спостерігається у фізіологічних умовах, а за переваги катіонів — позитивним. Знак СПЗ зумовлює напрям руху окремої клітини у рідкому середовищі (наприклад ізотонічному буферному розчині) до катода

чи анода під впливом зовнішнього електричного поля з певним градієнтом напруженості. Електрокінетичний потенціал, зумовлений цим зарядом, у фізичній хімії визначається як стрибок потенціалу між адсорбційним та дифузним шарами іонів подвійного електричного шару (ПЕШ) дисперсної частинки будь-якої природи, суспендованої в дисперсійному середовищі (електроліті) [1]. Він відомий як ζ -потенціал (у сучасній англійській літературі — Zeta Potential). СПЗ живих клітин забезпечують поліаміни, вбудовані в мембрану сіалові та асоційовані з нею нуклеїнові кислоти, різні вуглеводи та білки. І хоча молекули поліамінів несуть позитивний заряд, білки можуть бути заряджені як позитивно, так і негативно, від'ємний заряд сіалових і нукле-

інових кислот та полісахаридів переважає, що зумовлює негативний СПЗ клітинної поверхні (плазматичної мембрани разом із глікокаліксом) у межах значень рН 7,2–7,4. Зміни фізіологічного стану клітин або метаболічні відхилення від норми позначаються на величині ζ -потенціалу. Наслідком цього є зміни лінійної швидкості руху клітин в електричному полі, яка вимірюється експериментально за сталих значень рН, іонної сили дисперсійного розчину і температури [2–7]. Аналіз наукових публікацій свідчить, що визначення ζ -потенціалу є вагомим допоміжним методом оцінки впливу найрізноманітніших чинників на живу клітину, а певною мірою — і маркером її фізіологічного чи патологічного стану. Спроби долучити визначення електрокінетичних параметрів до арсеналу діагностичних методів робилися неодноразово. Зокрема, було запропоновано застосування аналітичного мікроелектрофорезу в експериментальних онкологічних дослідженнях [8], показана пряма кореляція між викликаними імунотерапією змінами електрофоретичної рухомості та механоломінесценції лімфоцитів мишей з меланою В16 [9]. На новому етапі технічних можливостей у світовій медицині, зокрема в онкології, відбувається вдосконалення цього підходу та його застосування [10, 11].

Оскільки експресія певних антигенів поверхневих мембран може спричинити виникнення субпопуляцій клітин (зокрема і патологічно змінених) з відмінними від норми електрокінетичними властивостями, є цілком логічною спроба використання ζ -потенціалу або СПЗ для попередньої діагностики онкологічних захворювань. Для підтвердження доцільності проведення цих досліджень на першому етапі необхідно оцінити електрокінетичні характеристики трансформованих клітин та порівняти їх із такими клітин здорових людей. Найкраще для цієї мети використовувати клітини периферичної крові пацієнтів з онкогематологічними захворюваннями, оскільки лейкоцити становлять натуральну суспензію окремих клітин у рідкому середовищі.

Мета роботи — дослідити та порівняти електрокінетичні властивості мононуклеарів і В-лімфоцитів периферичної крові (ПК) практично здорових людей та пацієнтів зі злоякісними новоутвореннями кровотворної та лімфоїдної тканини.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У дослідженні використано зразки ПК 25 (15 чоловіків, 10 жінок) пацієнтів із різними формами онкогематологічних захворювань, у віковому діапазоні від 40 до 73 років (виняток — хворий чоловічої статі, 23 роки, діагноз — гострий мієлоїдний лейкоз (ГМЛ) М1). За контроль брали зразки ПК 6 практично здорових осіб (3 чоловіки, 3 жінки зіставного вікового діапазону). Усі особи, дані щодо яких проаналізовано, проходили діагностичне обстеження у Відділі онкогематології ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України, були поінформовані щодо прове-

дення дослідження і надали письмову згоду на використання їх клінічного матеріалу в наукових цілях.

Серед обстежених пацієнтів 8 осіб були з В-клітинним хронічним лімфоїдним лейкозом (В-ХЛЛ); 12 — з ГМЛ на різних стадіях перебігу захворювання (М1 — 2, М4 — 2 і М5 — 8); 2 — з гострим лімфобластним лейкозом (В-лінійний гострий лімфобластний лейкоз (В-ГЛЛ) — 1, В-ГЛЛ з коекспресією мієлоїдного антигену CD13 (В-ГЛЛ-CD13⁺) — 1); 3 — з В-клітинною лімфомою з клітин мантіїної зони (В-МКЛ).

Для клітин загального пулу мононуклеарів, отриманих із зразків ПК, досліджено величини ζ -потенціалу (мВ) і щільності СПЗ (q), вираженої в Кл на одиницю площі поверхні мононуклеарів (Кл/м²). Мононуклеари виділяли із ПК після попереднього пасивного осадження еритроцитів, центрифугуванням на градієнті щільності фікол-верографін сукупної фракції лейкоцитів (1500 об./хв, щільність градієнта 1,077 г/см³). В-лімфоцити отримували із загального пулу мононуклеарів з використанням методу розеткоутворення, нехтуючи незначною домішкою моноцитів у кінцевій суспензії. Вживаність мононуклеарних клітин у кінцевій суспензії була не менше 93% (за тестом із трипановим синім).

Як показник субпопуляційного складу мононуклеарних клітин ПК, були вивчені профілі їх частотного розподілу за значеннями ζ -потенціалу. Проведено зіставлення електрокінетичних показників, визначених для мононуклеарів відносно здорових людей і відповідних лімфоїдних та лейкоїдних бластних клітин. ζ -потенціал обчислювали за рівнянням М.Р. Смолуховського [14, 15], в яке вводили значення лінійної швидкості руху клітин в електричному полі. Останню вимірювали за допомогою оптичного мікроскопа з окуляр-мікрометром та приладу оригінальної конструкції, в якому суспендовані в К/Na-фосфатному буфері (рН 7,4) клітини рухалися всередині плоскостінного кварцового капіляра. Завдяки цьому усувалися сторонні механічні впливи на характер руху клітин та забезпечувалася можливість використання мікрооб'ємів досліджуваного матеріалу. Відстань між платиновими електродами приладу дорівнювала 5 см, градієнт напруженості електричного поля досягав 20 В/см, оскільки до електродів прикладалася напруга у 100 В. Рівняння М.Р. Смолуховського, адаптоване до біологічних об'єктів за фізіологічних значень фізико-хімічних параметрів, має вигляд: $\zeta = 14U$, де U — так звана електрофоретична рухомість, виражена у позасистемних одиницях через відношення експериментально визначеної лінійної швидкості руху клітин (мкм/с) в електричному полі до градієнта напруженості поля (В/см) [15].

Напрямок руху клітин під дією зовнішнього електричного поля давав можливість визначити знак сумарного заряду клітин; поверхнева ж його щільність (q) обчислювалася згідно з рівнянням Квін-

ке — Гельмгольца: $q\delta = \xi\epsilon_a$, де δ — товщина ПЕШ, ϵ_a — абсолютна діелектрична проникність [2–7, 15].

Статистичну обробку отриманих результатів виконували з використанням t -критерію Стьюдента [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Вміст різних типів лейкоцитів у лейкограмі обстежених контрольної групи демонструє нормальний стан білого ростка крові у всіх донорів (лейкоцити $6,36 \pm 1,3 \cdot 10^9$ кл/дм³; лімфоцити $39,6 \pm 6,2\%$; моноцити $4,5 \pm 1,1\%$; гранулоцити $55,9 \pm 6,0\%$). У контрольній групі ζ -потенціал і щільність СПЗ (q) мононуклеарів загального пулу ПК та виділених В-лімфоцитів мало відрізнялися залежно від статі донорів, що дало підстави для усереднення даних у межах групи. Водночас між електрокінетичними характеристиками (ζ -потенціал (мВ), щільність СПЗ (q) ($\cdot 10^{-2}$ Кл/м²)) мононуклеарів загального пулу та В-лімфоцитів виявлено статистично суттєву ($p < 0,05$ при порівнянні обох показників) різницю (табл. 1).

Таблиця 1

Електрокінетичні характеристики клітин ПК практично здорових осіб

Показник	Мононуклеари загального пулу	В-лімфоцити
ζ -потенціал, мВ	$10,3 \pm 0,5$	$13,0 \pm 0,6^1$
Щільність СПЗ (q), $\cdot 10^{-2}$ Кл/м ²	$-7,4 \pm 0,4$	$-9,3 \pm 0,4^1$

¹ $p < 0,05$ порівняно з мононуклеарами загального пулу.

Частотний розподіл мононуклеарів ПК донорів за значеннями ζ -потенціалу має одномодальний профіль з інтегральним максимумом в інтервалі 7,1–10,5 мВ. В-лімфоцити також мали одномодальний профіль частотного розподілу за значеннями ζ -потенціалу з інтегральним максимумом, в інтервалі 10,6–14,0 мВ (табл. 2).

Електрокінетичні характеристики лімфоцитів хворих на В-ХЛЛ і бластних клітин крові пацієнтів із гострим лейкозом наведені в табл. 3. Як видно, електрокінетичні характеристики (значення ζ -потенціалу та щільності СПЗ) лімфоцитів ПК па-

цієнтів із діагнозом В-ХЛЛ не відрізнялися статистично суттєво від характеристик загального пулу мононуклеарів здорових донорів, але були достовірно нижчими порівняно з показниками В-лімфоцитів (див. табл. 1). Достовірної різниці показників у чоловіків та жінок не виявлено (див. табл. 3).

Аналізуючи характеристики клітин ПК пацієнтів із ГМЛ, слід зауважити, що деякі гістологічні варіанти ГМЛ, зокрема ГМЛ М1 (без ознак дозрівання) та ГМЛ М4 (гострий мієломонобластний лейкоз), серед представлених для дослідження матеріалів, траплялися зрідка (по 2 особи), внаслідок чого (див. табл. 3) наведені дані стосовно ГМЛ М1 та ГМЛ М4 на основі трикратних паралельних досліджень гомологічних матеріалів. Показано, що при ГМЛ досліджені характеристики певною мірою залежали від стадії перебігу захворювання. Найвищі значення ζ -потенціалу і щільності СПЗ (q) виявлено у клітинах хворих на ГМЛ М1 чоловіків (відповідно $14,8 \pm 0,6$ мВ, $(-10,6 \pm 0,4) \cdot 10^{-2}$ Кл/м², для обох показників $p < 0,05$ порівняно з даними щодо мононуклеарів ПК донорів (див. табл. 1)). При ГМЛ М4 виявлено зниження значень обох досліджених показників порівняно з контролем (у разі порівняння з характеристиками В-лімфоцитів — достовірне). Принципово подібні дані отримані і при дослідженні бластів групи з 8 пацієнтів із діагнозом ГМЛ М5: зниження ζ -потенціалу та щільності СПЗ (q) порівняно як із загальним пулом мононуклеарів, так і В-лімфоцитами донорів (див. табл. 3). Значення електрокінетичних параметрів бластів у чоловіків і жінок цієї групи мають достовірні відмінності ($p < 0,05$), проте порівнювати їх у цьому разі потрібно критично: жінки, які були охоплені дослідженням, досягли менопаузального періоду ($57,0 \pm 1,0$ року), в той час як вік чоловіків можна визначити як репродуктивний ($43,4 \pm 8,8$ року). На основі одержаних даних можна зазначити, що вимірювання електрокінетичних параметрів у цитологічних зразках може бути віднесене до засобів персоналізованого

Таблиця 2

Частотний розподіл за значеннями ζ -потенціалу клітин ПК донорів, %

Клітини	Інтервали значень ζ -потенціалу, мВ							
	0–3,5	3,6–7,0	7,1–10,5	10,6–14,0	14,1–17,5	17,6–21,0	21,1–24,5	24,6–28,0
Мононуклеари загального пулу	0	$11,3 \pm 5,6$	$55,0 \pm 7,0$	$22,5 \pm 5,6$	$8,8 \pm 4,2$	$1,3 \pm 1,4$	0	0
В-лімфоцити	0	0	$15,0 \pm 5,0$	$50,0 \pm 3,6$	$32,5 \pm 2,5$	$2,5 \pm 2,5$	0	0

Таблиця 3

Електрокінетичні характеристики лімфоцитів хворих на В-ХЛЛ і бластних клітин крові пацієнтів із гострим лейкозом

Показник	ζ -потенціал, мВ		Щільність СПЗ (q), $\cdot 10^{-2}$ Кл/м ²	
	чоловіки	жінки	чоловіки	жінки
В-ХЛЛ	$11,2 \pm 0,4^2$	$9,8 \pm 0,5^2$	$-8,0 \pm 0,6$	$-7,0 \pm 0,3^2$
ГМЛ М1	$14,8 \pm 0,6^{1,3}$	$11,7 \pm 0,5$	$-10,6 \pm 0,4^{1,3}$	$-8,4 \pm 0,4$
ГМЛ М4	$9,6 \pm 0,4^{2,3}$	$6,7 \pm 0,7^{1,2}$	$-6,6 \pm 0,3^{2,3}$	$-4,8 \pm 0,5^{1,2}$
ГМЛ М5	$9,4 \pm 0,5^2$	$8,1 \pm 0,2^{1,2}$	$-6,9 \pm 0,4^{2,3}$	$-5,8 \pm 0,1^{1,2}$
В-ГЛЛ	$11,8 \pm 0,8$	–	$-8,4 \pm 0,6$	–
В-ГЛЛ- CD13 ⁺	$8,4 \pm 1,1^2$	–	$-6,0 \pm 0,8^2$	–

¹ $p < 0,05$ порівняно з електрокінетичними характеристиками мононуклеарів загального пулу донорів.

² $p < 0,05$ порівняно з електрокінетичними характеристиками В-лімфоцитів донорів.

³ $p < 0,05$ при порівнянні показників чоловіків і жінок.

Частотний розподіл за значеннями ζ -потенціалу мононуклеарів ПК пацієнтів із В-ХЛЛ, %

Стать	Інтервали значень ζ -потенціалу, мВ							
	0,0–3,5	3,6–7,0	7,1–10,5	10,6–14,0	14,1–17,5	17,6–21,0	21,1–24,5	24,6–28,0
Чоловіки	0	4,0 ± 4,3	60,0 ± 4,5	20,0 ± 4,0	12,0 ± 6,5	4,0 ± 2,2	0	0
Жінки	0	13,3 ± 8,4	63,3 ± 12,6	10,0 ± 6,5	13,3 ± 4,2	0	0	0

Таблиця 5

Частотний розподіл за значеннями ζ -потенціалу бластів крові пацієнтів із ГМЛ М5, %

Стать	Інтервали значень ζ -потенціалу, мВ							
	0,0–3,5	3,6–7,0	7,1–10,5	10,6–14,0	14,1–17,5	17,6–21,0	21,1–24,5	24,6–28,0
Чоловіки	0	19,0 ± 5,4	58,0 ± 12,9	9,0 ± 1,1	6,0 ± 2,2	3,0 ± 3,2	2,0 ± 2,2	4,0 ± 2,5
Жінки	0	16,7 ± 12,0	60,0 ± 12,6	13,3 ± 13,5	6,7 ± 8,4	0	0	0

медичного моніторингу, тому нехтувати цими параметрами не варто.

Дослідження двох випадків В-ГЛЛ, в одному з яких спостерігалася коекспресія мієлоїдного антигену CD13, показало, що ζ -потенціал і СПЗ (q) лімфобластів хворого на В-ГЛЛ не відрізнялися статистично суттєво від таких у групі пацієнтів із діагнозом В-ХЛЛ і у практично здорових донорів (див. табл. 1, 3). У разі коекспресії мієлоїдного антигену (В-ГЛЛ-CD13⁺) вивчені характеристики мали найнижчі значення при всіх варіантах порівняння. Відмінності у значеннях ζ -потенціалу і СПЗ (q) лімфобластів хворих на В-ГЛЛ теоретично можна пояснити або надлишком на клітинній поверхні бластних клітин пацієнта з В-ГЛЛ-CD13⁺ позитивно заряджених молекул поліамінів, або шедингом частини поліаніонів, що входять до складу глікокаліксу (наприклад позаклітинних нуклеопротейдів); або ж, прямо чи опосередковано, саме коекспресією мієлоїдного антигену.

У табл. 4–6 представлені дані щодо частотного розподілу мононуклеарів ПК обстежених пацієнтів за величиною ζ -потенціалу.

Пацієнтам-чоловікам із В-ХЛЛ (вік 65,4 ± 1,5 року) був притаманний чітко виражений одномодальний розподіл за значеннями ζ -потенціалу, 80,0% клітин були в інтервалі ζ 7,1–14,0 мВ. Характер зазначеного розподілу у пацієнок жіночої статі (вік 65,7 ± 8,4 року) також можна вважати одномодальним, оскільки 76,6% клітин ПК знаходилися в інтервалі значень ζ -потенціалу 3,6–10,5 мВ. Наявність 23,3% клітин в інтервалі значень ζ 10,6–17,5 мВ демонструє лише наявність обмеженої субпопуляції клітин з підвищеним СПЗ (q) (див. табл. 4).

З даних (див. табл. 5) видно, що характер розподілу за значенням ζ -потенціалу бластів хворих з діагнозом ГМЛ М5, подібно до лімфоцитів хворих на В-ХЛЛ (див. табл. 4), має одномодальний характер. Профілі розподілу у чоловіків і жінок цілком конгруентні, з достовірно вираженим максимумом, який відповідає інтервалу значень 7,1–10,5 мВ; 77,0% клітин у чоловіків і 76,7% у жінок мають ζ -потенціал в інтервалі 3,6–10,5 мВ.

Зазначимо, що профілі частотного розподілу лімфоцитів пацієнок із діагнозом В-ХЛЛ і бластів пацієнок із діагнозом ГМЛ М5 зіставні практично повністю. Це потребує окремого розгляду, оскільки

ки бластні клітини при ГМЛ М5 відрізняються від мононуклеарів при В-ХЛЛ за своїм фенотипом. Зокрема, вони мають помітно більший діаметр (10–12 проти 7–8 мкм), а отже, і більшу площу поверхневої мембрани у окремо взятій клітині. Тому для того щоб ζ -потенціал бластів мав порівняно близькі до ζ -потенціалу В-лімфоцитів величини, потрібні певні зміни в іонному аранжуванні клітинної поверхні бластних клітин, які утримували б щільність СПЗ (q) на сталому рівні — приблизно такому ж, як і у разі з клітинами меншого розміру. Гіпотетично механізм стабілізації СПЗ (q) і прямо пов'язаного з ним ζ -потенціалу бластів ПК хворих на ГМЛ М5 на рівні значень, притаманних В-лімфоцитам пацієнок з В-ХЛЛ, можна пояснити своєрідною «інтервенцією» відповідної кількості катіонів, наприклад — поліамінів, на зовнішню поверхню бластів, що відповідно зменшує їх від'ємний СПЗ (q).

Що стосується пацієнтів чоловічої статі, то, незважаючи на достатню для статистичної обробки чисельність порівнюваних груп, зіставляти їх слід досить критично, враховуючи вікову різницю (середній вік хворих на В-ХЛЛ — 65,4 ± 1,3 року, хворих на ГМЛ М5 — 43,4 ± 8,8 року). Тобто гормональний статус, на тлі якого розвивався В-ХЛЛ, суттєво відрізнявся від такого у хворих на ГМЛ М5, що відображає вікові особливості виникнення хронічних і гострих лейкозів. Але якщо все ж таки порівняти результати цих груп, стає помітним, що лімфоцити ПК хворих на В-ХЛЛ мають більше значення ζ -потенціалу, ніж бластні клітини хворих на ГМЛ М5 (11,2 ± 0,4 проти 9,4 ± 0,5 мВ відповідно; $p < 0,05$ (див. табл. 3). Клітини пацієнтів порівнюваних груп мали одномодальний розподіл за значеннями ζ -потенціалу, однак дещо розрізнялись інтервали ζ -потенціалу для максимуму: при В-ХЛЛ — 7,1–14,0 мВ, при ГМЛ М5 — 7,1–10,5 мВ. Це також логічно свідчить на користь гіпотези про експресію катіонів на поверхні бластних клітин.

Заслужують на увагу результати дослідження лімфоцитів трьох пацієнтів, хворих на В-МКЛ (табл. 6, 7). В-МКЛ належать до пухлин, які розвиваються з менш зрілих клітин інтерфолікулярної зони (ще до їх надходження до зародкових центрів лімфоїдних фолікулів). Як видно (див. табл. 6), не виявлено достовірних відмінностей середніх значень ζ -потенціалу та щільності СПЗ цієї групи порівняно

Електрокінетичні характеристики лімфоцитів ПК пацієнтів із В-МКЛ

№ зразка (стать)	Вік, років	ζ , мВ	СПЗ q , $\cdot 10^{-2}$ Кл/м ²
96464 (ч)	49	9,9 \pm 0,8	-7,0 \pm 0,6
99520 (ч)	56	10,4 \pm 0,8	-7,5 \pm 0,6
99510 (ж)	59	11,5 \pm 1,0	-8,3 \pm 0,7
$M \pm n$	54,7 \pm 4,2	10,6 \pm 0,7	-7,6 \pm 0,5

Таблиця 7

Частотний розподіл за значеннями ζ -потенціалу лімфоцитів крові пацієнтів із В-МКЛ, %

№ зразка (стать)	Інтервали значень ζ -потенціалу, мВ							
	0,0–3,5	3,6–7,0	7,1–10,5	10,6–14,0	14,1–17,5	17,6–21,0	21,1–24,5	24,6–28,0
96464 (ч)	0	20	50	10	20	0	0	0
99520 (ч)	0	25	45	10	15	5	0	0
99510 (ж)	0	10	55	5	20	10	0	0
$M \pm n$	0	18,3 \pm 6,3	50,0 \pm 4,2	8,3 \pm 2,1	18,3 \pm 2,1	5,0 \pm 4,2	0	0

з показниками загального пулу мононуклеарів донорів та клітин ПК хворих на В-ХЛЛ або ГМЛ М5. При порівнянні показників пацієнтів із В-МКЛ і аналогічних характеристик В-лімфоцитів донорів різниця була статистично суттєвою ($p < 0,05$).

В усіх випадках, незалежно від статі пацієнтів, розподіл лімфоцитів за значеннями їх ζ -потенціалу демонструє чітко виражену тенденцію до виникнення його бімодального профілю (див. табл. 7).

Наявність бімодального розподілу лімфоїдних клітин (68,3% клітин в інтервалі 3,6–10,5 мВ, 31,6% — в інтервалі 10,6–21,0 мВ), чий ζ -потенціал не перевищує 50 мВ, отже, клітини живі [15], свідчить про виникнення окремої субпопуляції лімфоцитів, на зовнішній поверхні яких загальний баланс катіонів та аніонів порушений на користь останніх. Це призводить до збільшення від'ємного СПЗ клітин даної субпопуляції порівняно з основною масою лімфоцитів. Бімодальний профіль частотного розподілу лімфоїдних клітин пацієнтів із В-МКЛ, зокрема — В-МКЛ на стадії лейкоїзації, порівняно з одномодальним в інших випадках, описано у джерелах літератури [17, 18]. Можливо, саме виникнення другого піку частотного розподілу мононуклеарів ПК пацієнтів цього профілю свідчить про початок процесу лейкоїзації лімфоми.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що В-лімфоцити практично здорових донорів мають достовірно вищі значення ζ -потенціалу та від'ємного СПЗ (q), ніж лімфоцити хворих на В-МКЛ і навіть бластні клітини ПК пацієнтів із ГМЛ. Це може бути пояснене збільшенням кількості катіонів, зокрема поліамінів, на поверхні лімфоїдних клітин хворих онкологічного профілю, що призводить до відносного зменшення впливу аніонів на сумарний заряд їх поверхні.

2. Для лімфоцитів ПК пацієнтів із діагнозом В-ХЛЛ та ГМЛ М5 виявлений одномодальний профіль розподілу за ζ -потенціалом.

3. Аналіз розподілу за ζ -потенціалом лімфоцитів ПК пацієнтів із В-МКЛ демонструє тенденцію до виникнення бімодального профілю. Другий пік розподілу свідчить про наявність певної кількості клітин із порушеннями іонного балансу їх поверх-

ні на користь аніонів, що може бути наслідком процесу лейкоїзації лімфоми.

4. Показано різницю в електрокінетичних характеристиках бластів, відмінних за рівнем диференціювання, які походять із різних кровотворних клітин-попередників при ГМЛ М1 і ГМЛ М5. Так, бластні клітини без ознак дозрівання (ГМЛ М1) мають у 1,5 раза більші ζ -потенціал та від'ємний СПЗ (q), ніж бласти при ГМЛ М5.

5. Показана можливість використання електрокінетичних параметрів як додаткового джерела інформації про стан поверхні злоякісно трансформованих клітин новоутворень кровотворної та лімфоїдної тканин.

Подяка. Висловлюємо глибоку подяку професору Д.Ф. Глузману і всім співробітникам відділу онкогематології ІЕПОР ім. Р.Є. Кавецького НАН України за консультативну підтримку, люб'язно надані зразки крові пацієнтів і методичну допомогу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Boguslavskiy LI. On the nature of the potential jump at the interface bilayer membrane with an aqueous solution of electrolyte. Bioelectrochemical phenomena and phase boundary 1978; М.: Nauka, 360 p (in Russian).
2. Garmanchouk LV, Pyascovskaya ON, Yanish Yu, et al. Influence of aconitine-containing herbal extract BC 1 on proliferative and electrokinetic characteristics of endothelial cells. Exp Oncol 2005; 27 (4): 262–6.
3. Ollishevskiy SV, Yanish YuV, Kozak VV, et al. The effect of bacterial CpG- DNA on the electrokinetic potential of cells of the immune system of mice. Rep NASU 2005; 11: 178–82 (in Ukrainian).
4. Lukianova NYu, Naleskina LA, Bezdenezhnykh NO, et al. Reactive changes of cytophysiological properties, molecular-biological profile and functional metabolic status of cells in vitro with different sensitivity to cytostatic agents under the influence of magnetic fluid. Canc Res Journ 2013; 1 (1): 7–14.
5. Janisch YuV, Artamonova AB, Shlyakhovenko VA. Glyco-peptide vaccine on DNA-histone carrier and its impact on ζ -potential of effector cells during experimental treatment of lymphoblastic leukemia. Exp Oncol 2013; 35 (3): 198–201.
6. Yanish YuV, Gonchar MV, Artamonova AB, et al. The effect of modulators of arginine and polyamine levels on the metabolic activity of macrophages, cytolytic activity of splenocytes and their electrokinetic properties in mice with leukemia L 1210. Clin Oncol 2015; 2 (18): 47–51 (in Ukrainian).

7. Yanish YuV, Gonchar MV, Gogol SV, Klenov OO, Bentrads VV. Effect of modulators of arginine and polyamine metabolism on the surface electric charge of Lewis lung cancer cells (LLC) *in vivo* and on their proliferative activity in culture. Clin Oncol 2015; 2 (18): 52–4 (in Ukrainian).

8. Novichenko NL, Struk VI. Analytical microelectrophoresis of cells and ways of its use in cancer research. Exp Oncol 1985; 7 (3): 21–6 (in Russian).

9. Orel VE, Alexeev SB, Grynevitch UA. The study of mechanoluminescence of lymphocytes in the tumor process. Exp Oncol 1991; 13 (6): 71–3 (in Russian).

10. Bondar OV, Saifullina DV, Shakhmaeva II, et al. Monitoring of the Zeta potential of human cells upon reduction in their viability and Interaction with Polymers. Acta Nat 2012; 4 (1): 78–81.

11. Akagi T, Kato K, Hanamura N, et al. Evaluation of desialylation effect on zeta potential of extracellular vesicles secreted from human prostate cancer cells by on-chip microcapillary Electrophoresis. Jap J of Appl Phys 2014; 53: 06JL01.

12. Swerdlov SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organisation classification of lymphoid neoplasms. Blood 2016; 127 (20): 2375–90.

13. Gluzman DF, Sklyarenko LM, Koval SV, et al. Diagnosis of tumors of the hematopoietic and lymphoid tissues (according to the WHO classification). 2017; Kiev: DIA, 64 p (in Russian).

14. Smoluchowski MR. About Brownian molecular motion under action of external forces and their connection with the generalized Diffusion equation. Ann Phys 1915; 48: 1103 (in German).

15. Jensen G-L. Electrophoresis of cells. Immunological methods (Ed. H. Frimel). 1979; M: Mir, 296 p (in Russian).

16. Lakin GF. Biometrics. 1990; M: Higher School, 352 p (in Russian).

17. Yanish YuV, Zaletok SP, Sklyarenko LM. Electrokinetic characteristics of lymphoid cells in patients with chronic and acute leukemias and non-Hodgkin's lymphomas. Clin Oncol 2017; 4 (28): 88–91 (in Ukrainian).

18. Yanish YuV, Zaletok SP, Bentrads VV, Sklyarenko LM. Electrokinetic characteristics of lymphoid cells of cancer patients and healthy donors. Clin Oncol 2018; 8 (3): 216–9 (in Ukrainian).

ELECTROKINETIC CHARACTERISTICS OF LEUKEMIC CELLS

Yu. V. Yanish, S. P. Zaletok, O. O. Klenov,
V. V. Bentrads, T. S. Ivanivska

R. E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, NAS of Ukraine, Kyiv,
Ukraine

Summary. Objective: to study and compare the electrokinetic properties of mononuclear cells and B-lymphocytes of peripheral blood (PB) of practically healthy people and patients with malignant neoplasms of hematopoietic and lymphoid tissues. **Object and methods:** we used 25 samples of PB of patients (15 males, 10 females) with different types of oncohematological diseases, in the age range from 40 to 73 years. With B-cell chronic lymphoid leukemia (B-CLL) — 8 people; 12 — with

acute leukemia (AML) (M1 — 2, M4 — 2 and M5 — 8); 2 — with acute lymphoblastic leukemia (ALL); 3 — with B-cell lymphoma from the cells of the mantle zone (B-MCL). Mononuclear cells were isolated from PB using the density gradient of ficoll-verografin, B-lymphocytes — using the method of rosette formation. Electrokinetic parameters (values of ξ -potential and density of total surface charge (TSC)) were determined by the linear velocity of cells in an electric field, using the equations adopted in such studies. **Results:** B-lymphocytes of practically healthy donors have significantly higher values of ξ -potential and negative TSC than lymphocytes of patients with B-MCL and even blast cells of patients with AML. Electrokinetic characteristics of lymphocytes of patients with B-CLL did not differ statistically significantly from the characteristics of the general pool of mononuclear cells of almost healthy people, but were significantly lower than those of B-lymphocytes. It has shown the difference in the electrokinetic characteristics of blasts with variant level of differentiation, which originate from different hematopoietic progenitor cells in AML M1 and AML M5. Blast cells without signs of maturation (AML M1) have 1.5 times greater ξ -potential and negative TSC than blasts in AML M5. For lymphocytes of patients diagnosed with B-CLL and AML M5, a single-modal profile of ξ -potential distribution was revealed. Analysis of the ξ -potential distribution of lymphocytes in patients with B-MCL shows a tendency to a bimodal profile of the frequency distribution of cells by ξ -potential, which may be the result of transformation of lymphoma cells to leukemia cells. **Conclusion:** the possibility of using electrokinetic parameters as an additional source of information about the surface condition of malignantly transformed cells of hematopoietic and lymphoid tumors is shown.

Key Words: lymphocytes, B-cell chronic lymphoid leukemia, acute myeloid leukemia, acute myeloid leukemia, acute lymphoblastic leukemia, B-cell lymphoma from mantle zone cells, ξ -potential, total surface charge.

Адреса для листування:

Яніш Ю.В.

Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького
НАН України

03022, Київ, вул. Васильківська, 45

E-mail: yanish.yuriy@gmail.com

Одержано: 19.05.2020