

СТРОМА ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ ХЛЛ

Обзор литературы

Семенова Н.Ю., Ругаль В.И.

ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России», Санкт-Петербург Тел. (812) 274-66-40, email: bloodscience@mail.ru

Резюме. Оценка состояния стромального микроокружения лимфоидной ткани при злокачественной трансформации лимфоидных предшественников имеет принципиальное значение в раскрытии механизмов развития лимфопролиферативных заболеваний, так как на сегодняшний день твердо установлено, что стромальные клетки лимфоидных органов, в частности лимфатических узлов, играют важную роль в поддержании нормального лимфопоэза и иммуногенеза. Учитывая это обстоятельство, представляется актуальным анализ структурных особенностей непаренхиматозного компонента лимфатических узлов.

Целью обзора являлся анализ литературных данных о состоянии стромы лимфатических узлов при одном из самых распространенных лимфопролиферативных заболеваний – ХЛЛ, с вовлечением в процесс лимфоидной ткани лимфоузлов.

Ключевые слова: хронический лимфолейкоз, строма лимфоузлов, микроокружение.

STROMA OF LYMPH NODES IN CLL

Semenova N., Rugal V.

Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, Saint-Petersburg

Summary. Stromal lymphoid tissue microenvironment state estimation at lymphoid precursor's malignant transformation is important in lymphoproliferative diseases progression mechanisms disclosure because today it is fixed that stromal cells of lymphoid organs including lymph nodes play great role in normal lymphopoiesis and immunogenesis. Taking into account this fact, analysis of lymph nodes nonparenchymal element structural features seems to be actual.

The aim of review was to analyze literary data about lymph nodes stroma state in one of the most widespread lymphoproliferative diseases – CLL, with nodes lymphoid tissue involvement in the process.

Keywords: chronic lymphatic leukemia, stroma of lymph nodes, microenvironment.

Введение

Кроветворная и лимфоидная ткани организма представляет собой единую структурно-функциональную систему, в которой осуществляется длительное самоподдержание стволовых клеток и происходит их дальнейшее развитие в миелоидном и лимфоидном направлении. Одной из характеристик указанного миелолимфоидного комплекса является наличие в нем клеточных и внеклеточных структур стромы, которые формируют необходимое микроокружение для поддержания и развития стволовых клеток [1]. Указанные структуры стромы формируют нишу стволовых клеток для их длительного самоподдержания и образуют территории, на которых становится возможной реализация генетической программы пролиферации и дифференцировки клеток-предшественниц гемолифопоэза [2].

Костномозговая строма и ее роль в нормальном гемопоэзе и значение ее дефектов в развитии гемобластозов, включая лимфопролиферативные заболевания, достаточно хорошо охарактеризована в литературе [2-6]. Однако наряду с костным мозгом внимание исследователей все больше привлекают лимфатические узлы, где происходят завершающие этапы В-лимфопоэза и иммуногенеза, изменения в которых лежат в основе патогенеза нарушений пролиферации и дифференцировки лимфоидных предшественников [7-11]. Изучение клеточных популяций лимфатических узлов больных лимфопролиферативными заболеваниями выявило, что наряду с изменением лимфоидных клеток, имеют место и нарушения морфологических и функциональных свойств стромальных элементов лимфоидного микроокружения [12]. При этом практически отсутствуют сведения о морфофункциональных особенностях стромального микроокружения лимфоидной ткани больных ХЛЛ с пролиферацией опухолевых клеток в лимфатических узлах. Целью обзора являлся анализ литературных данных о состоянии стромы лимфатических узлов при одном из самых распространенных лимфопролиферативных заболеваний – ХЛЛ, с вовлечением в процесс лимфоидной ткани лимфоузлов.

Характеристика непаренхиматозного компонента лимфатических узлов

Непаренхиматозный компонент лимфатических узлов представлен стромальными элементами, характеризующимися структурными и функциональными особенностями. Это, прежде всего, собственно стромальные образования, выполняющие, в основном, опорную и трофическую функцию. В лимфатических узлах они представлены фибробластами, фиброцитами, миоцитами, эндотелиоцитами сосудов, нейтральными

элементами. Наряду с указанными образованиями непаренхиматозные структуры лимфоидной ткани включают в себя группу ретикулярных клеток, которые совместно с выше указанными элементами стромы, а также в сочетании с экстрацеллюлярным матриксом формируют лимфоидное микроокружение, обеспечивающее развитие лимфоидных клеток. При этом необходимо заметить, что ключевая роль развития лимфоидных предшественников принадлежит ретикулярным клеткам и экстрацеллюлярному матриксу. Остальные элементы стромы играют вспомогательную роль.

Термин ретикулярные клетки носит собирательный характер и включает 4 основных морфофункциональных типа: гистиоцитарные, дендритные, интердигитирующие и фибробластические ретикулярные клетки. На светооптическом уровне с использованием рутинных окрасок дифференцировать указанные типы достаточно сложно, поскольку их морфологические характеристики не четки. Определение принадлежности к определенному варианту требует гистохимических и иммуногистохимических методов анализа.

Гистиоцитарные ретикулярные клетки имеют вид фиксированных макрофагов, почти неотличимых от гистиоцитов и макрофагов костномозгового происхождения, особенно находящихся в лимфатических фолликулах.

Дендритные ретикулярные клетки преобладают в корковом веществе, главным образом в центрах первичных и вторичных лимфатических фолликулов, являясь антиген-представляющей субпопуляцией клеточных элементов лимфатического узла [13]. Эти клетки способны длительное время удерживать антиген на своей поверхности, регулируя образование В-клеток памяти и предшественников антителоформирующих плазмочитов [28]. Кроме того, дендритные ретикулярные клетки образуют правильную сеть в первичных и вторичных лимфоидных фолликулах. Реализации этих функций способствуют длинные отростки цитоплазмы, которые соединены с такими же отростками соседних дендритных ретикулярных клеток. Они имеют характерные ядра: часто они двуядерные или многоядерные. Рутинными методами окраски дендритные отростки не идентифицируются, но часто они хорошо визуализируются на срезах, окрашенных на IgM, маркирующий иммунные комплексы на поверхности отростков. Их отростки также выявляются окрашиванием на CD21 и CD23 [14]. Дендритные клетки помимо длинных отростков, которыми они соединяются между собой, имеют отчетливо различимые замыкательные комплексы – десмосомы, отличающие эти клетки от интердигитирующих ретикулярных клеток.

Интердигитирующие ретикулярные клетки в наибольшем количестве присутствуют в паракортикальной зоне, определяя стимуляцию Т-клеточного ответа. Интердигитирующие ретикулярные клетки имеют бледно окрашивающиеся ядра овальной или удлинённой формы, иногда с инвагинациями довольно сложной конфигурации, и широкую цитоплазму. Эти клетки имеют большое сходство с клетками Лангерганса, но не содержат гранул Бирбека. При иммуноцитохимическом исследовании в них определяется белок S-100 и антиген HLA-DR [14]. Интердигитирующие ретикулярные клетки, в отличие от дендритных, соединяются между собой и другими клеточными элементами при помощи пальцевидных отростков цитоплазмы, входящих между такими же структурами других клеток.

Фибробластические ретикулярные клетки характеризуются наличием в цитоплазме волокнистых структур, идущих на формирование ретикулиновых волокон.

Во всех ретикулярных клетках имеется слабо выраженный гранулярный эндоплазматический ретикулум и мелкие митохондрии. Хроматин в ядрах мелко диспергирован (исключение – фибробластические ретикулярные клетки), это придает ядрам светлый вид. Как правило, в ядрах контурированы крупные ядрышки.

Гистохимическое исследование показывает следующее распределение ферментов в ретикулярных клетках: АТФ-аза и неспецифическая эстераза (интердигитирующие); кислая фосфатаза и неспецифическая эстераза (дендритные); кислая фосфатаза и неспецифическая эстераза в большей степени, чем в дендритных клетках (гистиоцитарные); щелочная фосфатаза (фибробластические) [13].

Иммуногистохимически в непаренхиматозном компоненте лимфатических узлов в большей или меньшей степени выявляется экспрессия виментина, десмина, ламинина, коллагена IV типа, FVIII R:Ag, очень редко – пан-цитокератинов, лизоцима, белка S100 и альфа-1-антихимотрипсина. Эти данные подтверждают наличие мышечных, фибробластических элементов, ретикулярных клеток, макрофагов и кровеносных сосудов [13, 14].

Общие данные о регуляции лимфопоэза

Хорошо известно, что лимфопоэз происходит в центральных органах иммунной системы: в тимусе формируются Т-лимфоциты, а в красном костном мозге – В-лимфоциты. В дифференцировке Т-лимфоцитов существенную роль играет стромальное микроокружение вилочковой железы.

В корковом веществе тимуса доминируют эпителиальные клетки или клетки-няньки (nurse-cells), которые обнимают лимфоциты, а в мозговом веществе – дендритные клетки и макрофаги. Все клетки стромы тимуса обеспечивают разные этапы дифференцировки Т-лимфоцитов, которые занимают около 3 дней. «Клетки-няньки» синтезируют ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-7, продуцируют гормоны тимуса: несколько разновидностей тимозина, тимулина, тимопоэтина. Вне тимуса им принадлежит важная роль – посттимусное созревание Т-лимфоцитов и поддержание их функциональной активности (секреция ИЛ-2). Также с «клетками-няньками» связано формирование Т-клеточных рецепторов и процессы негативной и позитивной селекции Т-лимфоцитов [13, 14].

Направление дифференцировки стволовых клеток в сторону развития В-лимфоцитов происходит в деятельном костном мозге губчатой кости. При этом ведущую роль играет стромальное микроокружение костного мозга. Как и развитие Т-клеток, В-клеточная дифференцировка также требует присутствия многих цитокинов (ИЛ-2, ИЛ-3, ИЛ-7, ИЛ-9 и других), межклеточных взаимодействий и сопровождается позитивной и негативной селекцией. Антигеннезависимый В-лимфоцитопоз протекает под влиянием В-лимфопоэтинов, вырабатываемых стромой костного мозга. Сложная сеть сигнальных путей регуляции в настоящее время является предметом интенсивных исследований. После созревания зрелые В-клетки покидают костный мозг и, подобно Т-лимфоцитам, начинают рециркулировать между периферическими лимфоидными органами до встречи с антигеном, которому они специфичны.

Когда антиген попадает на рецептор, клетка попадает в зародышевый центр лимфоидного фолликула, где, как центробласт, она быстро делится и ее V гены подвергаются соматическим гипермутациям. Этот процесс добавляет мутации в реаранжированные VHDJH и VLJL генные сегменты, что кодирует сайт для связывания с рецептором [13, 14]. Клетки с рецепторами, которые имеют повышенную антиген-связывающую способность, пролиферируют в присутствии антигена, в то время как centroциты с рецепторами, которые больше не связываются с антигеном или связываются с аутоантигенами, обычно уничтожаются. Стимуляция и выбор пути обычно требует помощи Т-лимфоцитов и происходит в зародышевых центрах, структура которых обеспечивает селекцию В-клеток. Тем не менее, этот процесс может протекать без Т-клеток и за пределами зародышевого центра, в маргинальных зонах вокруг лимфоидных фолликулов, чаще всего в ответ на углеводы инкапсулированных бактерий или вирусов.

Оба процесса ведут к развитию плазматических клеток или антиген-презентирующих В-клеток памяти.

Одновременно с В-клеточной активацией, изменяются белки на поверхности В-клеток. Эти изменения помогают активированным В-клеткам взаимодействовать с другими клетками и растворимыми медиаторами, и тем самым увеличиться в количестве или созреть в антитело-продуцирующие плазматические клетки. Одна поверхностная молекула, которая поддерживает В-клеточные взаимодействия - это CD38. CD38 имеет аденозиндифосфатрибозную циклазную активность, и при определенных обстоятельствах увеличивает сигналинг через В-клеточные рецепторы и предоставляет сигналы, которые регулируют апоптоз В-клеток.

Антигензависимый лимфоцитопоз проходит в периферических органах иммунитета, где Т- и В-лимфоциты расселяются в особые зоны, которые называются Т- и В-зависимыми зонами.

В-зависимые зоны - это зоны лимфоидных фолликулов лимфоузлов, селезенки, аппендикса, миндалин, лимфоидных агрегатов кишечника. Т-зависимые зоны — это паракортикальная зона лимфоузлов, периартериальные зоны селезенки, интерфолликулярные зоны в аппендиксе, миндалинах, пейеровых бляшках. В Т-зонах находятся интердигитирующие клетки и макрофаги, которые создают микроокружение для Т-лимфоцитов и передают им информацию об антигене. Кроме того, в Т-зонах есть особый вид микрососудов — посткапиллярные венулы с высоким эндотелием. Через них происходит миграция лимфоцитов из крови в периферические органы иммуногенеза, высота эндотелия может меняться, при этом изменяется и скорость миграции. Проникновение лимфоцитов в ткань лимфатического узла регулируется взаимодействием с высоким эндотелием венул. В этих взаимодействиях участвуют селектины, CD44 и интегрины, экспрессированные на лимфоцитах. Селектины (CD62L) связываются с сиалированными углеводами эндотелиоцитов, CD44 – с гиалуронатом, интегрины LFA-1 и VLA-4 с ICAM-1 и VCAM-1 соответственно [14].

Хронический лимфолейкоз

Хронический лимфолейкоз (ХЛЛ) представляет собой заболевание лимфоидной ткани, характеризующееся клональной пролиферацией и неуклонным накоплением длительно живущих опухолевых клеток в периферической крови, костном мозге, лимфатических узлах, а также в печени, селезенке и других органах и тканях. Диагноз ХЛЛ ставится, когда наряду с лимфаденопатией в периферической крови выявляется

лимфоцитоз, причем абсолютное количество лимфоцитов $> 5 \times 10^9/\text{л}$ сохраняется более 3 мес., а клетки высоко экспрессируют CD 19+, CD5+, CD23+, CD43+ и CD79 α [15, 16]. Обнаруживается также экспрессия CD20+ и слабая экспрессия поверхностных IgM и IgD, к или λ легкие цепи, с обнаружением в 5% случаев цитоплазматических Ig [17, 18]. Поражение лимфатических узлов имеет диффузный характер, в 40% случаев имеется псевдофолликулярный тип роста, характеризующийся наличием светлоокрашенных зон, напоминающих фолликулы, на более темноокрашенном фоне. В отдельных наблюдениях отмечен интерфолликулярный рост с сохранением нормальных фолликулов [19, 20]. Митотическая активность очень низкая, маркеры пролиферативной активности (PCNA, Ki-67) чаще выявляются в клетках псевдофолликулов [21].

Давно установленный факт, что стромальные клетки лимфоидных органов играют инструктивную роль в поддержании нормального лимфопоэза и иммуногенеза, а оценка состояния стромального микроокружения лимфоидной ткани при злокачественной трансформации лимфоидных предшественников имеет принципиальное значение в раскрытии механизмов развития лимфопролиферативных заболеваний, включая ХЛЛ [7].

Как отмечалось выше морфологические и функциональные свойства стромы костного мозга в норме и при различных гемобластозах широко изучены, но имеются лишь единичные работы [5, 7, 8, 10, 11], посвященные описанию свойств стромальных элементов лимфатических узлов при лимфопролиферативных заболеваниях.

Известно, что строма реализует свое воздействие на гемопоэтические клетки, как путем непосредственных межклеточных контактов, так и опосредованно, с помощью гуморальных механизмов. При лимфоидных неоплазиях происходят значительные нарушения в системе межклеточных взаимодействий. Клетки микроокружения являются главным источником цитокинов – пептидов, обеспечивающих регуляцию пролиферации, дифференцировки и апоптоза гемопоэтических клеток. Отмечено, что роль цитокинов в патогенезе лимфопролиферативных заболеваний весьма значительна [12]. К примеру, известно, что пролиферативная активность стромы лимфоузлов у больных Неходжкинскими лимфомами не зависит от морфологического варианта заболевания, а связана с продукцией цитокинов, в частности ФНО- α стромальными элементами лимфатических узлов. У пациентов с ХЛЛ повышена секреция стромой лимфатических узлов ИЛ-6 и ИЛ-4 *in vitro* [7], что отражает участие данных веществ в патогенезе данных заболеваний. Применение химиотерапии снижает продукцию ИЛ-4 *in vivo*, что может быть благоприятным фактором, учитывая особенность ИЛ-4 ингибировать апоптоз опухолевых клеток. Также были показаны различия в экспрессии внутриклеточного ИЛ-8

клетками опухолевого клона и нормальными В-лимфоцитами, что имеет клиническое значение [22]. Методом проточной цитофлуориметрии выявлено, что у больных с доброкачественным течением заболевания уровень ИЛ-8 на клетках опухолевого клона составил $0.67 \pm 0.20\%$. У больных с прогрессирующей формой заболевания экспрессия ИЛ-8 была выше и равнялась $16,72 \pm 5,08\%$ ($p < 0,05$). У доноров крови экспрессия ИЛ-8 В-лимфоцитами составила $0.46 \pm 0,20\%$. Скорее всего, высокие уровни экспрессии ИЛ-8 опухолевыми клетками у больных с прогрессирующей формой заболевания подтверждают способность этого цитокина влиять на процесс аккумуляции лейкозных клеток, способствуя опухолевому росту и прогрессии заболевания [22].

При лимфоидных неоплазиях, как и в других случаях онкологических заболеваний, малигнизированные клетки секретируют разнообразные факторы роста и онкобелки, способные стимулировать пролиферацию фибробластов, гладкомышечных клеток и эндотелиальных клеток из их предшественников, а также усиливать синтез и секрецию зрелыми клетками компонентов экстрацеллюлярного матрикса. Стромобразование в опухоли является результатом взаимодействия между опухолевыми клетками и клетками соединительной ткани гистиогенного и гематогенного происхождения. Dilly S.A. et al. определили, что при лимфоидных малигнизациях снижается количество ретикулярных клеток и клеток эндотелия сосудов. По мнению авторов, лимфоидные малигнизации оказывают деструктивный эффект на некоторые стромальные элементы. Таким образом, гиперпластический рост стромы не всегда ассоциирован с более тяжелым клиническим течением заболевания, что может быть обусловлено как разнообразием непосредственного взаимного влияния опухолевых гемопоэтических и стромальных клеток, так, в некоторых случаях, и изменением выработки цитокинов, обеспечивающих ускоренную пролиферацию стромы.

Существует множество установленных и предполагаемых взаимодействий между клетками стромы и паренхимы гемопоэтической и лимфатической систем. Хорошо известно, что клетки стромы костного мозга играют ключевую роль в хоуминге, пролиферации и дифференцировке клеток-предшественниц гемолимфопоэза. Таким же образом, эпителиальные клетки тимуса модулируют пролиферацию и дифференцировку Т лимфоцитов. Что касается лимфатических узлов, значительные исследования были посвящены дендритным клеткам, которые презентируют антиген и участвуют в инициации Т - зависимых клеточных ответов.

Работы, посвященные изучению дендритных клеток (ДК) при некоторых формах опухолей, показали, что количество и иммунофенотип ДК, их распределение в

опухолевой и непораженной ткани отражаются на прогнозе этих новообразований. ДК являются гетерогенной группой, в зависимости от происхождения их делят на миелоидные ДК (мДК) и плазмоцитоидные ДК, инициирующие разные типы клеточного ответа – T_H1 или T_H2 [23]. В зависимости от функционального состояния ДК могут быть подразделены на незрелые и зрелые. Основной функцией незрелых ДК является захват антигенов, в том числе опухолевых, путем эндоцитоза и фагоцитоза, а также выработка цитокинов, привлекающих и активирующих клетки врожденного иммунитета, что позволяет ограничить распространение повреждающего фактора. Созревание ДК, в процессе которого они становятся наиболее активными антигенпрезентирующими клетками иммунной системы, сопровождается потерей эндоцитарных и фагоцитарных рецепторов, изменением морфологии, секрецией молекул-костимуляторов (CD40, CD80, CD86) и разнообразных хемокинов и цитокинов, варьирующих в зависимости от типа чужеродного антигена и вида клеток, которые вовлекаются в иммунный ответ.

ДК играют в норме важную роль в формировании микроокружения кроветворных клеток костного мозга и лимфоидной ткани. Иммунофенотип незрелых мДК: CD1+, низкая экспрессия CD83, CD208 (DC-LAMP)-, CD209 (DS-SIGN)+, цитоплазматический МНС II. Иммунофенотип зрелых мДК: CD1+-, высокая экспрессия CD83, CD208 (DC-LAMP)+, CD209(DS-SIGN)-, мембранная экспрессия МНС II [23].

ДК считаются наиболее важным фактором, определяющим состав лимфоидной популяции и влияющим на регулирование функциональной активности лимфоидных клеток. Они могут создавать не только противоопухолевые, но и проопухолевые стимулы. Так, ДК совместно с TGF β способствуют дифференцировке предшественников FoxP3-клеток в зрелые CD4+ FoxP3-клетки. С другой стороны, ДК не только презентуют опухолевые антигены натуральным киллерам и цитотоксическим клеткам, которые обеспечивают противоопухолевый иммунитет, но и принимают непосредственное участие в элиминации опухолевых клеток.

Стоит отметить, что В-ХЛЛ характеризуется большим количеством CD5+ долгоживущих клеток в костном мозге, крови и вторичных лимфоидных органах [24]. На сегодняшний день, принято считать, что устойчивость к апоптозу и избирательное выживание ХЛЛ клеток не только автономная характеристика, но зависит от внешних антиапоптозных стимулов. Это подтверждается тем фактом, что, несмотря на их долгую жизнь *in vivo*, ХЛЛ клетки часто уходят в апоптоз в условиях *in vitro*. Это также позволяет предположить, что в условиях *in vitro* клетки не получают сигналов выживания, которые присутствуют в микроокружении *in vivo*. Некоторые сигналы, исходящие от стромальных

и Т клеток костного мозга, как оказалось, усиливают рост и продлевают жизнь ХЛЛ клеток [25, 26].

Сигналинг В-клеток играет огромную роль в их выживании и развитии. Главным образом сигналинг опосредуется через киназу Syk как в нормальных, так и в злокачественных В-клетках. Было показано, что при использовании низкомолекулярных ингибиторов Syk, антигеннезависимый В-клеточный сигналинг способствует злокачественному фенотипу в различных вариантах диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, возможно главным образом через фактор NFκB [11, 27]. Важность сигналинга В-клеток (как антигензависимого, так и антигеннезависимого) в поддержании ХЛЛ спорно, но последние исследования показали, что при ХЛЛ экспрессия Syk повышена, и что результатом ингибирования Syk является даунрегуляция медиаторов выживания и апоптоза ХЛЛ. NFκB активировался преимущественно в клетках лимфатических узлов через канонический путь, что вызывало пролиферацию и активацию с-тус внутри микроокружения. Злокачественная пролиферация, которая наблюдалась внутри лимфатического узла, коррелировала с прогрессированием заболевания у пациентов, что позволило предположить, что микроокружение в лимфатическом узле может быть ключевой детерминантой в отношении течения заболевания и его исхода.

Не так давно было отмечено, что внеклеточный тиоредоксин защищает ХЛЛ клетки от апоптоза *in vitro* [28]. Тиоредоксин является мультифункциональным белком, который повсеместно экспрессируется в небольшом количестве во всех клетках тела. Внутриклеточный тиоредоксин имеет как антиапоптотический эффект так и ростовой эффект. Некоторые клетки способны высвободить тиоредоксин. Эта внеклеточная форма тиоредоксина имеет цитокинную и хемокинную активности [29].

Было показано, что Т-клетки в ХЛЛ микроокружении подавляют апоптоз опухолевых клеток. Также было показано, что хотя Т-клетки продуцировали интерферон гамма и ИЛ-4 (*Bäckman E. et al., unpublished data*), экспрессия тиоредоксина в этих клетках не была повышена. Стромальные клетки лимфоидной ткани также присутствовали в центрах пролиферации ХЛЛ. Интересно, что экспрессия тиоредоксина коррелировала с присутствием как стромальных клеток, так и с пролиферирующими Ki-67-клетками опухоли, причем размер и число пролиферативных центров варьировало от пациента к пациенту. У пациентов с большим соотношением пролиферирующих клеток Ki-67+, тиоредоксинэкспрессирующие клетки были главным образом локализованы рядом с Ki-67+ и окружены ими, указывая на то, что тиоредоксин является потенциальным фактором выживания опухоли [28]. Гиперэкспрессия ZAP-70 коррелировала с

отсутствием соматических мутаций IGHV генов, что позволило предположить, что ZAP-70 вовлечен в более агрессивный ход заболевания [30, 31]. Показано, что экспрессия тиоредоксина не была связана с мутантным и не мутантным статусом IGHV генов. Так же было сделано предположение, что тиоредоксин опосредует рост опухоли независимо от мутантного статуса IGHV генов ХЛЛ пациента. Было показано, что стромальные клетки опухоли не только экспрессировали тиоредоксин, но некоторые из них секретировали его *ex vivo*. Интересно, что стромальные клетки костного мозга и клетки-няньки были также способны секретировать тиоредоксин, таким образом, секреция тиоредоксина стромальными клетками лимфатического узла не является тканеспецифичной.

Нельзя утверждать, что не существует других факторов, которые могут увеличивать выживаемость опухолевых клеток, но в настоящее время помимо тиоредоксина таких факторов из стромы не выделено. Хотя стоит заметить, что стромальный антиапоптотический эффект блокировался анти-тиоредоксином.

Детальный механизм тиоредоксин-опосредованного увеличения выживаемости неопластических клеток при ХЛЛ еще предстоит изучить, хотя известно, что это белок влияет на некоторые окислительно-регуляторные функции и ассоциирован с большим количеством белков-мишеней, модулируя их трехмерную структуру и функции и катализируя тиол-дисульфидные обменные реакции. Интерферон гамма и CD4 являются цистеин-богатыми мембранными рецепторами, которые регулируются окислительно-восстановительным путем посредством тиоредоксина. Внутри клетки тиоредоксин связывается с киназой (ASK-1), регулируя ее активность [32]. Более того, связывание NFκB p50 субъединицы с ДНК тоже регулируется тиоредоксином. Таким образом, тиоредоксин является ключевым белком в индуцировании синтеза нескольких цитокинов, включая ИЛ-4, интерферон γ и ФНО-α, которые, как известно, влияют на выживаемость неопластических клеток при ХЛЛ [33].

Исторически, ХЛЛ был описан как аккумуляторное заболевание клеток с дефектом апоптоза. Согласно данной точке зрения, большинство ХЛЛ клеток периферической крови имеют арест в G0/G1 фазе. Однако недавние исследования с использованием маркера клеточного цикла Ki67 показали, что ХЛЛ пролиферация возникает в костном мозге и вторичных лимфоидных органах. Сигналы, которые контролируют клеточную пролиферацию, остаются неизвестными, так как большинство *in vitro* систем не способны поддержать ХЛЛ пролиферацию клеток. При культивировании *in vitro*, ХЛЛ клетки быстро вступают в апоптоз, если они не контактируют со стромальными клетками, или, если не добавить растворимых факторов [34]. *In vitro* огромное количество различных

молекул могут увеличить выживаемость ХЛЛ клеток, но на ограниченное время, что указывает на отсутствие важных факторов, которые присутствуют *in vivo*.

На данный момент мы владеем разрозненными данными, говорящими нам о существенной роли стромального микроокружения в лимфатических узлах в норме и при становлении ХЛЛ. При этом отсутствует целостное представление о структурных особенностях лимфоидной стромы при нарушениях пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов. Для получения новых данных о роли лимфоидной стромы в появлении и развитии злокачественного клона при малигнизации лимфопозеза вообще и при ХЛЛ в частности, необходимы дальнейшие исследования морфофункционального статуса элементов стромального микроокружения лимфатических узлов с использованием современных методов структурного анализа [35, 36].

Литература

1. Zhang J., Li L. Stem Cell Niche: Microenvironment and Beyond // *J Biol Chem.* – 2008. – Vol. 283, № 15. – P. 9499–9503.
2. Purton L.E., Scadden D.T. The hematopoietic stem cell niche // *StemBook*, ed. The Stem Cell Research Community. - 2008. – Vol. 15. – P. 1-14.
3. Yin T., Li L. The stem cell niches in bone // *J Clin Invest.* - 2006. - Vol. 116. – P. 1195–1201.
4. Scadden D.T. The stem cell niche in health and leukemic disease // *Best Pract Res Clin Haematol.* – 2007. - Vol. 20, № 1. – P. 19–27.
5. Ругаль В.И., Семенова Н.Ю., Бессмельцев С.С. Состояние интрамедуллярной стромы больных неходжкинскими лимфомами с поражением костного мозга // *Вестник гематологии.* – 2011. - Т. VII, №2. - С. 36-37.
6. Semenova N., Bessmeltsev S., Rugal V. Stromal microenvironment lymph nodes in CLL // *Haematologica.17 Congress EHA Amsterdam. Abstract Book.* – 2012. - Vol. 97, № S1. – P. 521.
7. Киселева М.В. Морфо-функциональное состояние стромы лимфатических узлов при некоторых лимфопролиферативных заболеваниях. Диссертация. Санкт-Петербург, 2001.
8. Tsuda H., Nishimura H., Sawada T., Takatsuki K. The roles of lymph node stromal cells in proliferation of lymphoid leukemia cells // *Br.J.Cancer.* – 1990. - Vol. 61. – P. 362-364.
9. Bonato M., Pittaluga S., Tierens A. et al. Lymph node histology in typical and atypical chronic lymphocytic leukemia // *Am J Surg Pathol.* – 1998. - Vol. 22, № 1. – P. 49-56.

10. Park C-S., Choi Y.S. How do follicular dendritic cells interact intimately with B cells in the germinal centre? // *Immunology*. – 2005. - Vol. 114. – P. 2–10.
11. Herishanu Y., Perez-Galan P., Liu D. et al. The lymph node microenvironment promotes B-cell receptor signaling, NF-kappaB activation, and tumor proliferation in chronic lymphocytic leukemia // *Blood*. – 2011. - Vol. 117, № 2. – P. 563-574.
12. Caligaris-Cappio F. Role of the microenvironment in chronic lymphocytic leukaemia // *Br J Haematol*. – 2003. - Vol. 123. – P. 380-388.
13. Беянин В.Л., Цыплаков Д.Э. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов. - СПб-Казань, 1999. – 328 с.
14. Д.Райт, Б.Эддис, Э.Леонг. Морфологическая диагностика патологии лимфатических узлов. - М.: Мед.лит., 2008. – С. 42-86.
15. Криволапов Ю.А., Леенман Е.Е. Морфологическая диагностика лимфом. - СПб.: Коста., 2006. – С. 45-48.
16. Rosati S., Kluin P.M. Chronic lymphocytic leukaemia: a review of the immunoarchitecture // *Curr Top Microbiol Immunol*. – 2005. - Vol. 294. - 91-107.
17. Hallek M., Cheson B.D., Cotovsky D. et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute Working Group 1996 guidelines // *Blood*. - 2008. - Vol. 111. – P. 544-546.
18. Rawstron A.C., Bennett F.L., O'Connor S.J. et al. Monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia // *N Engl J Med*. - 2008. - Vol. 359, № 6. – P. 575-583.
19. Chiorazzi N., Rai K.R., Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia // *N Engl J Med*. – 2005. - Vol. 352. - P. 804-815.
20. Montillo M., Hamblin T., Hallek M. et al. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies // *Haematologica*. - 2005. - Vol. 90, № 3. – P. 391-399.
21. Cordone I., Matutes E., Catovsky D. Monoclonal antibody Ki-67 identifies B and T cells in cycle in chronic lymphocytic leukemia: correlation with disease activity // *Leukemia*. - 1992. - Vol. 6, № 9. – P. 902-906.
22. Шерстнева Е.С., Исаева Н.В., Загоскина Т.П. и др. Клиническое значение внутриклеточного ИЛ-8 у больных В-клеточным хроническим лимфолейкозом // *Вестник гематологии*. – 2007. - Т 3, №2. - С. 49-50.
23. Леенман Е.Е., Мухина М.С. и др. Место дендритных клеток в микроокружении при лимфоме Ходжкина. - Санкт-Петербург, 2010.

24. Asplund S.L., McKenna R.W., Howard M., Croft S.H. Immunophenotype does not correlate with lymph node histology in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma // *Am J of Surg Pathol.* – 2002. - Vol. 26. – P. 624-629.

25. Bueso-Ramos C.E., Ferrajoli A., Medeiros L.J. et al. Aberrant morphology, proliferation, and apoptosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells // *Hematology.* – 2004. - Vol. 9. – P. 279-286.

26. Tangye S.G., Raison R.L. Human cytokines suppress apoptosis of leukaemic CD5+ B cells and preserve expression of bcl-2 // *Immunol Cell Biol.* – 1997. - Vol. 75. – P. 127-135.

27. Jonathan W. Friedberg. CLL microenvironment: macro important // *Blood.* – 2011. - Vol. 117, № 2. – P. 377-378.

28. Bäckman E., Bergh A-C., Lagerdahl I. et al. Thioredoxin, produced by stromal cells retrieved from the lymph node microenvironment, rescues chronic lymphocytic leukemia cells from apoptosis in vitro // *Haematologica.* – 2007. - Vol. 92, № 11. – P. 1495-1504.

29. Gromer S., Urig S., Becker K. The thioredoxin system: from science to clinic // *Med Res Rev.* – 2004. - Vol. 24. – P. 40-89.

30. Weistner A., Rosenwald A., Barry T.S. et al. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile // *Blood.* – 2003. - Vol. 101. – P. 4944-4951.

31. Amin S., Parker A., Manu J. Zap 70 in chronic lymphocytic leukemia // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2008. – Vol. 40, № 9. – P. 1654-1658.

32. Saitoh M., Nishitoh H., Fujii M. et al. Mammalian thioredoxin is a direct inhibitor of apoptosis signal-regulating kinase [ASK-1] // *Embo J.* – 1998. - Vol. 17. – P. 2596-2606.

33. Burke-Gaffney A., Callister M.E., Nakamura H. Thioredoxin: friend or foe in human disease? // *Trends Pharmacol Sci.* – 2005. - Vol. 26. – P. 398-404.

34. Ghia P., Circosta P., Scielzo C. et al. Differential effects on CLL cell survival exerted by different microenvironmental elements // *Curr Top Microbiol Immunol.* – 2005. – Vol. 294. - P. 135-145.

35. Семенова Н.Ю. Иммунная гистохимия при изучении ниши гемопоэтических стволовых клеток // *Вестник гематологии.* – 2011. - Т. VII, №1. - С.41.

36. Семенова Н.Ю., Ругаль В.И. Морфофункциональные особенности стромы лимфатических узлов при ХЛЛ // *Вестник гематологии.* – 2011. - Т. VII, №4. - С.45-46.