

Лазерная биофотоника проливает свет на биофизические механизмы деформируемости эритроцитов



Доцент А.В. Приозжев



С.н.с. Е.А. Ширшин



Аспирант А.Н. Семенов

Деформируемость красных клеток крови, эритроцитов — это их фундаментальное свойство, обеспечивающее их способность проникать в мельчайшие кровеносные сосуды — капилляры и снабжать кислородом все ткани тела человека. Эритроциты — это клетки максимально высокой специализации. Они осуществляют обмен дыхательных газов, а также транспорт питательных веществ и продуктов межклеточного и тканевого метаболизма. Нарушения газотранспортных процессов приводят к необратимым структурным повреждениям органов и тканей организма. В ходе эволюции для обеспечения наибольшей эффективности газообмена эритроциты лишились многих клеточных подсистем (ядра, митохондрий, цитоплазматического ретикулума), обеспечив тем самым наибольший объем для заполнения молекулами гемоглобина, выполняющими газотранспортную функцию. При циркуляции крови эритроциты вынуждены испытывать значительные механические нагрузки в зависимости от реологических условий кровеносного русла. Эритроциты способны проходить через капилляры, размер которых вдвое меньше размера самой клетки, эффективно изменяя свою форму и размеры для обеспечения наибольшей поверхности для газообмена (рис. 1). В то же время в крупных сосудах, где скорость течения и соответствующие сдвиговые напряжения высоки, эритроциты стабильно сохраняют форму дискоцита для обеспечения наилучших гидродинамических условий течения крови. Такое поведение эритроцитов возможно благодаря их деформируемости, которая обеспечивается за счет оптимальных значений соотношения площади поверхности клетки и ее объему, вязкости внутриклеточного содержимого и жесткости примембранныго цитоскелета.

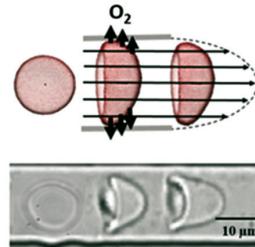


Рис. 1. Изменение формы эритроцита при движении в микроканале вследствие сдвиговых напряжений в потоке.

В эритроците существуют молекулярные системы точной подстройки и регуляции деформируемости. В процессе биологического развития человека возникли сигнальные системы, диктующие необходимость клетки изменить свое биомеханическое состояние в ответ на физиологические запросы организма. Одной из таких систем в эритроците является аденилатциклазный сигнальный каскад, биомеханические функции которого были исследованы на физическом факультете МГУ имени М.В. Ломоносова с применением методов лазерной биофотоники и результаты были опубликованы в августе 2019 г. [1]. Ключевым элементом этой системы является фермент аденилатциклаза. Его активация запускает каскад ферментативных реакций, приводящих к изменению микромеханического состояния клетки за счет структурных изменений белковых комплексов, прикрепляющих цитоскелет к клеточной мембране (схема каскада представлена на рис. 2). Активация аденилатциклазы происходит при стимулировании адренергических рецепторов на поверхности клеточной мембраны. Естественным ак-

тиватором каскада является адреналин, концентрация которого в крови значительно увеличивается при стрессе или высоких физических нагрузках. В современной медицинской практике часто используются искусственные синтетические адреностимуляторы, т.н. адреномиметики. В результате конформация белков цитоскелета изменяется, что приводит к отсоединению цитоскелета от мембранны и уменьшает жесткость всей биомеханической конструкции. Это позволяет эритроциту легче изменять форму и размеры. Тем самым такая система создает предпосылки для улучшения микроциркуляции при стрессовой нагрузке, однако комплексного исследования роли различных стимуляций аденилатциклазного каскада в изменении деформируемости эритроцитов до недавнего времени проведено не было.

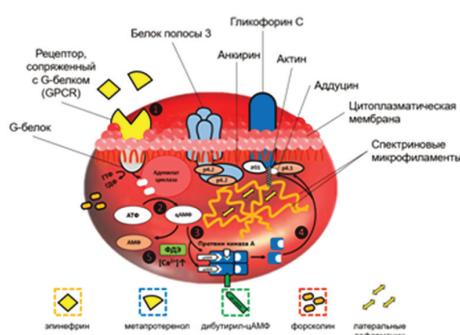


Рис. 2. Последовательная блок-схема молекулярных сигнальных путей при активации мембранный аденилатциклазы, приводящих к изменению структур белков примембранных цитоскелета, что обеспечивает способность эритроцита к деформации [1].

Нами было проведено исследование эффектов при различной стимуляции аденилатциклазного сигнального каскада в изменении деформируемости эритроцитов. Для этого был использован малоинвазивный метод лазерной эктацитометрии. Суть метода заключается в анализе дифракционных картин, получаемых при освещении лазером (длина волны 635 нм, мощность 1.5 мВт) суспензии эритроцитов, находящихся под сдвиговым напряжением в микроканале экспериментальной кюветы. Формирующаяся дифракционная картина характеризует среднюю форму клеток в популяции. Форма дифракционной картины аппроксимируется эллипсом, что позволяет ввести индекс деформируемости (ИД) как отношение разности больших и малых полуосей эллипса к их сумме. Исследование изменений ИД при различных сдвиговых напряжениях позволяет оценивать способность эритроцитов к деформации. На ансамбле большого числа эритроцитов (10 000–100 000 клеток) нами было показано, что различная стимуляция аденилатциклазного каскада достоверно увеличивала деформируемость эритроцитов, причем эффект имел дозозависимый характер [1]. Наибольший эффект был обнаружен при воздействии адреналина — соответ-

ствующие графики деформируемости эритроцитов изображены на рис. 3. Для некоторых стимуляторов есть определенная зависимость эффекта от величины внешнего механического воздействия на клетку. Это дает основания полагать, что состояние биомеханических молекулярных систем эритроцита зависит от внешнего механического воздействия и подтверждает концепцию о роли сигнальных систем в подстройке реологического состояния клетки в ответ на внешние микромеханические стимулы.

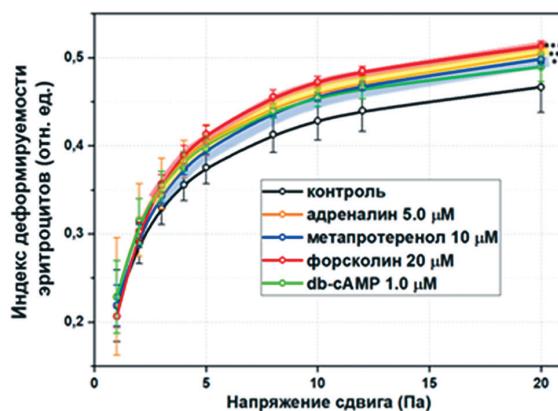


Рис. 3. Зависимость индекса деформируемости эритроцитов от напряжения сдвига в потоке при различной стимуляции аденилатциклазного каскада [1]. Результаты лазерной эктапицетомии. Размер выборки $N = 10$, указаны стандартные значения и отклонения от средних. Достоверность различий определялась по стандартному T -тесту.

Практическая значимость полученных результатов заключается в определении адекватных рабочих диапазонов активаторов аденилатциклазного каскада, позволяющих с одной стороны обнаружить достоверно значимые эффекты, с другой стороны — избежать морфологических изменений эритроцитов вследствие возможных цитотоксических проявлений, что представляет значительный интерес для прогноза и коррекции гемореологических нарушений при многих социально-значимых заболеваниях.

Работа была выполнена при поддержке грантов РФФИ мол_а № 18-32-00756 (разработка экспериментальных оптических методик) и РНФ № 18-15-00422 (проведение экспериментов и статистическая обработка данных).

The effects of different signaling pathways in adenylyl cyclase stimulation on red blood cells deformability / Semenov A.N., Shirshin E.A., Muravyov A.V., Priezzhev A.V. // Frontiers in Physiology – 2019. – VOL. 10 – № 923, DOI: 10.3389/fphys.2019.00923.