

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ОТВЕТОВ ЭРИТРОЦИТОВ РАЗНОГО ВОЗРАСТА ГАЗОТРАНСМИТТЕРЫ У ПАЦИЕНТОВ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

Тихомирова И. А., Петроченко Е. П., Малышева Ю. В.,
Кислов Н. В., Лемехова В. А., Муравьев А. В.

Ярославский государственный педагогический университет имени К. Д. Ушинского,
Ярославль, Россия

Введение. При злокачественных новообразованиях (ЗНО) повреждение мембран эритроцитов приводит к экспонированию фосфатидилсерина на внешней части мембраны клетки, что ведет к изменению проницаемости для Ca^{2+} и преждевременному старению клеток с последующим их апоптозом [1, 2]. Что касается старых эритроцитов, то они обладают повышенной агрегируемостью и ригидностью и сниженным кислородтранспортным потенциалом [3]. Поскольку популяция старых клеток составляет не менее 10% клеточного объема, то это может иметь существенный реологический эффект, особенно в капиллярном русле [4, 5]. Поскольку известно, что газотрансммиттеры (ГТ) положительно влияют на микрореологию эритроцитов [6, 7], то возможно, что они могут способствовать ее восстановлению у старых эритроцитов, находящихся в циркуляции.

Цель данного исследования было сравнительное изучение характера изменений микрореологических характеристик эритроцитов разного возраста под влияние оксида азота (NO) и сероводорода (H_2S) у пациентов ЗНО.

Методы исследования. Эритроциты цельной крови отделяли от плазмы центрифугированием. Суспензию эритроцитов (гематокрит = 80%) разделяли последующим центрифугированием на три возрастные фракции: молодые (10% – верхняя фракция), зрелые (средняя фракция – 80%) и старые клетки (10% – нижняя фракция). Каждую фракцию делили на три аликвоты и клетки инкубировали при 37°C в течение 30 мин с каждым из перечисленных ниже соединений:

- 1) с донором NO – нитропропруссидом натрия (НПП, в концентрациях 100 мкМ);
- 2) с донором H_2S – гидросульфидом натрия (NaHS , в концентрациях 100 мкМ);
- 3) В каждом опыте в качестве контроля использовали суспензию эритроцитов, инкубируемых растворе Рингера, без добавления указанных выше препаратов.

Регистрировали показатели агрегации эритроцитов (ПАЭ, агрегометр Myrenne M1) и степень деформируемости эритроцитов трех возрастных фракций в проточной микрокамере. Для этого определяли индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ) [7]. После инкубации с донорами ГТ регистрировали ИУЭ

и ПАЭ трех возрастных фракций эритроцитов и сравнивали их с данными контрольных опытов (инкубация эритроцитов без препаратов).

При статистической обработке определяли среднюю величину и ее стандартную ошибку ($M \pm m$). Полученные данные проверяли на характер распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. С учетом этого были использованы непараметрические методы программы “Statistica 10.0”. За статистически значимые принимали изменения при $p < 0,05$ и $0,01$.

Результаты и их обсуждение. Деформируемость молодых эритроцитов под влиянием инкубации с НПН, хотя и достоверно, однако только на 5% ($p < 0,01$), тогда как прирост ИУЭ старых эритроцитов составил 13% (рис. 1, $p < 0,01$).

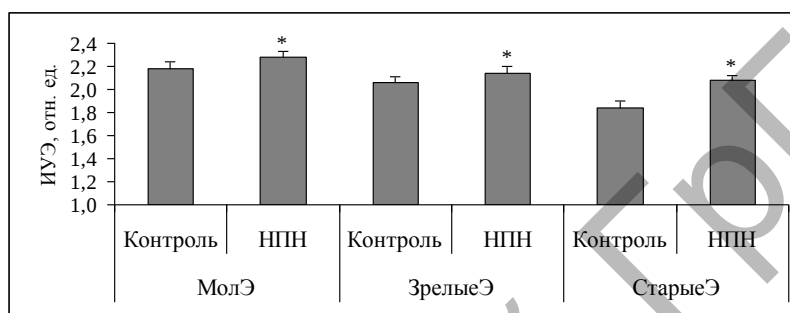


Рисунок 1. – Изменение деформируемости эритроцитов (ИУЭ) разных возрастных фракций под влиянием донора оксида азота, нитропруссид натрия (НПН) у пациентов злокачественными новообразованиями

При этом если до воздействия НПН разница деформируемости между молодыми и старыми клетками составляла 15%, то после воздействия донора NO она была равной только 7%. При этом ИУЭ даже превышал таковой в популяции зрелых эритроцитов ($2,08 \pm 0,02$ отн. ед. – старые эритроциты и $2,06 \pm 0,02$ отн. ед. – зрелые клетки).

В основном сходная картина изменений ИУЭ наблюдалась при инкубации эритроцитов трех возрастных фракций, при их инкубации с NaHS. Прирост деформируемости был существенно большим у старых эритроцитов (рис. 2). Важно иметь в виду, что выраженные положительные изменения агрегации эритроцитов во всех трех возрастных фракциях эритроцитов наблюдались при воздействии двух доноров ГТ. Причем величины сдвигов ПАЭ были более значительные (снижение ПАЭ от 15 до 45%), чем изменения деформируемости эритроцитов. Анализ изменений в трех возрастных группах клеток показал, что агрегация эритроцитов, также как их деформируемость, в большей степени снижалась под влиянием ГТ у старых эритроцитов: на 24-30% у молодых и на 45% ($p < 0,01$) – у старых клеток.

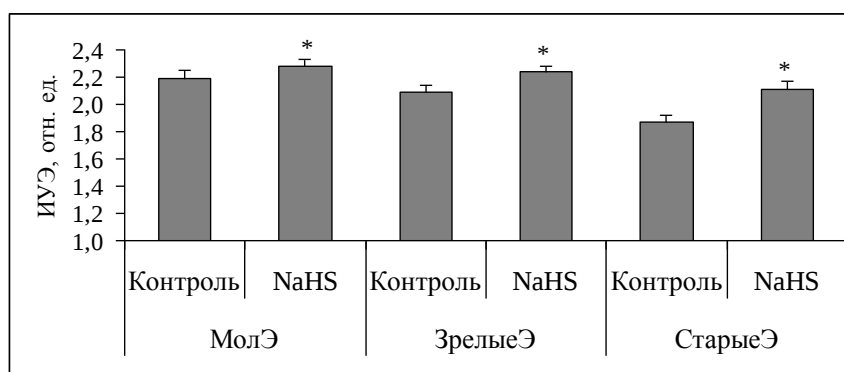


Рисунок 2. – Изменение деформируемости эритроцитов (ИУЭ) разных возрастных фракций под влиянием донора оксида азота, нитропруссид натрия (NaHS) у пациентов злокачественными новообразованиями

Таким образом, можно заключить, что под влиянием доноров двух ГТ, оксида азота и сероводорода не только положительно изменяются микрореологические характеристики всех трех возрастных фракций эритроцитов, но старые эритроциты практически восстанавливают свои микрореологические свойства до уровня самой большой возрастной популяции – зрелых клеток у пациентов ЗНО.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-015-00143.

ЛИТЕРАТУРА

1. Birka C., Lang A., Kempe S. et al. Enhanced susceptibility to erythrocyte apoptosis following phosphate depletion // Pflügers Archiv European Journal of Physiology. – 2004. – Vol. 448, № 5. – P. 471–477.
2. Kempe D.S., Lang A., Eisele K., et al. Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by lead ions // Am J Physiol Cell. – 2005. – Vol. 288. – P. 396–402.
3. Meiselman H.J. Red blood cell role in RBC aggregation: 1963-1993 and beyond // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 1993. – Vol. 13. – P. 575–592.
4. Chien S. Rheology in the microcirculation in normal and low flow states // Adv. Shock Res. – 1982. – Vol. 8. – P. 71–80.
5. Pries A.R., Secomb T. Rheology of microcirculation // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 2003. – Vol. 29. – P. 143–148.
6. Grau M., Cremer J.M., Schmeichel S., Kunkel M., Bloch W. Comparisons of Blood Parameters, Red Blood Cell Deformability and Circulating Nitric Oxide Between Males and Females Considering Hormonal Contraception: A Longitudinal Gender Study // Front Physiol. – 2018. – Vol. 9. – P. 1835.
7. Muravyov A.V., Antonova N., Tikhomirova I.A. 2019. Red blood cell micromechanical responses to hydrogen sulfide and nitric oxide donors: Analysis of crosstalk of two gasotransmitters (H₂S and NO) // Series on Biomechanics. – 2019. – Vol. 33. – P. 34–40.