

*П.В. Михайлов, Р.С. Остроумов, Е.А. Кузнецова, Е.Л. Волкова,
С.В. Булаева, А.А. Муравьев, Комлев В.Л.*

РОЛЬ МИКРОРЕОЛОГИИ ЭРИТРОЦИТОВ В МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ

Аннотация. В статье рассматриваются основные теоретические и экспериментальные исследования по микроциркуляции и микрореологии эритроцитов с акцентом на механизмы их взаимосвязи и о влиянии отдельных гемореологических характеристик на регуляцию микрососудистой перфузии тканей. Выполнен анализ микрореологии эритроцитов – их деформируемости и агрегации, показаны сигнальные молекулярные механизмы, ассоциированные с изменением этих микромеханических показателей. Приведены данные, свидетельствующие о роли эритроцитов в регуляции тонуса артериол и функциональной плотности капилляров. Обсужден механизм этой регуляции путем выделения аденозинтрифосфата (АТФ) и его стимулирование синтеза оксида азота (NO) эндотелиальными клетками. Кроме того, в статье выполнен комплексный анализ участия основных гемореологических характеристик в регуляции микрососудистой перфузии и в том числе показана роль оптимальной вязкости цельной крови и вязкости плазмы для эффективной тканевой перфузии и оксигенации.

Ключевые слова: гемореология, микроциркуляция, эритроциты, деформируемость и агрегация, сигнальные молекулы, АТФ, NO, регуляция тонуса микрососудов.

P.V. Mikhailov, R.S. Ostroumov, E.A. Kuznetsova, E.L. Volkova, S.V. Bulaeva, A.A. Muravyov, Komlev V.L.

THE ROLE OF ERYTHROCYTE MICRORHEOLOGY IN MICROCIRCULATION

Abstract. The review considers the main theoretical and experimental studies on microcirculation and hemorheology with an emphasis on the mechanisms of their interrelation and on the influence of individual hemorheological characteristics on the regulation of microvascular tissue perfusion. The analysis of the leading

© П.В. Михайлов, Р.С. Остроумов, Е.А. Кузнецова, Е.Л. Волкова,
С.В. Булаева, А.А. Муравьев, Комлев В.Л., 2022

microrheological characteristics of erythrocytes - deformability is performed, the signal molecular mechanisms associated with the change of this cell parameter are shown. Data on the role of erythrocytes in the regulation of arteriolar tonus and functional density of capillaries are given. The mechanism of this regulation by exocytosis with erythrocytes adenosine triphosphate (ATP) and its stimulation of nitric oxide synthesis by endothelial cells are discussed. The review performed a comprehensive analysis of the participation of major hemorheological characteristics in the regulation of microvascular perfusion, including the role of the optimal viscosity of whole blood and the viscosity of plasma for effective tissue perfusion and oxygenation.

Keywords: hemorheology, microcirculation, erythrocytes, deformability, aggregation, signaling molecules, ATP, NO, microvascular tone regulation.

Введение. Микрососудистое русло представляет собой систему мельчайших кровеносных сосудов и включает *капилляры, артериолы* – микрососуды диаметром до 100 мкм и *венулы* – сосуды несколько большего, чем артериолы диаметра [1]. Основной функций микроциркуляции является регуляция и распределение кровотока в отдельных органах и транскапиллярный обмен в тканевых микрорайонах. Именно на этот отдел приходится около 80% падения давления между аортой и полыми венами [2, 3]. Также отличием микрососудов является то, что они входят в состав органов, как их структурные элементы, тогда как магистральные сосуды таковыми не являются. Это обеспечивает эффективную коммуникацию между клетками паренхимы и микрососудистым руслом органов. Важным предметом исследования микроциркуляции является необходимость понимания того, как особые характеристики крови в целом и микрореологическое поведение ее клеточных элементов обеспечивают эффективное решение транспортных задач и транскапиллярный обмен.

Кровь является концентрированной суспензией форменных элементов, таких как эритроциты, лейкоциты и тромбоциты [1]. Эритроциты являются двояковогнутым диском с типичными размерами 6-8 мкм в диаметре и толщиной 2 мкм; у млекопитающих эритроциты лишены ядра и их внутренне содержимое представляет концентрированный раствор гемоглобина, заключенный в очень эластичную мембрану, при этом в кровотоке, эритроциты

подвергаются значительным деформациям. Кроме того в системе кровообращения имеется несколько типов лейкоцитов, например, гранулоциты такие как: нейтрофилы, базофилы и эозинофилы, моноциты, лимфоциты, макрофаги. Они изменяются по размерам и свойствам, например, типичный неактивированный нейтрофил имеет сферическую форму с диаметром около 8 мкм. Тромбоциты представляют собой по форме дискоидные частицы с диаметром около 2 мкм. Детальное понимание потоковых свойств крови обеспечивает *гемореология*, наука о деформации и течении крови и ее форменных элементах. Тогда как термин *микрореология* используется для того, чтобы подчеркнуть масштаб изучаемых процессов и явлений, обычно на микроскопическом уровне [4]. Реологические свойства крови зависят от скорости сдвига, его времени, а также размеров и геометрии системы в которой находится изучаемый образец крови [5]. Основные реологические свойства крови, включая ее неньютоновские характеристики, известны давно из вискозиметрических измерений, которые используют ротационные вискозиметры и капиллярные приборы. Такие исследования создают ценную информацию о свойствах крови при определенных хорошо контролируемых условиях. При этом было показано, что низких скоростях сдвига вязкость крови связана с выраженной агрегацией эритроцитов, тогда как в зоне высоких скоростей сдвига – доминирует их потоковая деформация [5]. Реологические свойства крови в такой сложной сети как микрососудистое русло с огромным количеством сосудистых сегментов разной длины, диаметра, скоростей сдвига, не могут быть спрогнозированы на основе данных, полученных из таких простых систем как вискозиметры. Кроме того, внутри микрососуды покрыты фиброзным материалом, который замедляет скорость течения вблизи сосудистой стенки, а эндотелиальные клетки, расположенные в венах, обеспечены рецепторами, которые взаимодействуют с лигандами на лейкоцитах. Это дает им возможность адгезии к сосудистому эндотелию, с последующей трансмиграцией в ткани [6]. Также не маловажно и то, что артериолы участвуют в регуляции кровотока, благодаря тому, что в их стенку вмонтированы сенсорные механизмы, способные регистрировать изменение напряжения сдвига, созданного движущейся по сосуду кровью. Эти механизмы обеспечивает входную информацию сократительным элементам сосудистой стенки и таким образом, этот механизм поддерживает постоянство их

напряжения. Хронические изменения баланса этих сил, в течение дней и недель, ведут к адаптивным изменениям сосудистой стенки и реорганизации всей сосудистой сети (как например, при ангиогенезе и сосудистом ремоделировании). Поскольку эти силы передаются на сосудистую стенку кровью, то очевидно, что на механику этого взаимодействия будут оказывать существенное влияние ее *реологические свойства*.

Роль эритроцитов, как регуляторов сосудистого тонуса

Эритроциты – это клетки крови, ответственные за транспорт кислорода в организме, часто рассматриваются как простые емкости для перемещения Hb и дыхательных газов в системе кровообращения. Однако становится очевидным, что эти клетки также участвуют в регуляции тонуса артериол, посредством выделения потенциального вазодилатора – аденозинтрифосфата (АТФ) [7]. Действительно показано, что АТФ – является сигнальной молекулой, участвующей в регуляции сосудистого тонуса артериол [8]. Он стимулирует образование NO и простагландинов и, очень важно, что при этом могут компенсироваться местные симпатические вазоконстрикторные реакции. В регуляторном выделении АТФ из эритроцитов участвуют сигнальные молекулы аденилатциклазного каскада [9]. Вполне возможно, что активация этого сигнального пути реализует два адаптивно-регуляторных эффекта: 1) выделение АТФ как сигнальной молекулы для пуринергических рецепторов типа P_2U , и 2) фосфорилирование белка полосы 4.1 для повышения пластичности мембраны и деформируемости самих эритроцитов [8].

Анализ данных литературы показывает, что эритроциты могут выполнять функцию *сенсора* для регуляции тонуса артериол. Это реализуется путем ответа клетки на гипоксический или механический стимул с последующим выделением АТФ и/или NO . Следовательно, эритроциты играют значительную роль в регуляции доставки O_2 в окружение капилляров, артериол и венул. Это зависит от эффективности, с которой эритроциты передают сигнал эндотелию сосудов. Если предположить, что распределение пуринергических рецепторов (тип P_2U) равномерно в микрососудистом русле, то более эффективным местом для передачи сигнала на эндотелий должны быть *капилляры*, где эритроцитарная мембрана тесно контактирует с эндотелием. АТФ, освобождаемый из эритроцитов, должен диффундировать на короткое расстояние до P_2U рецепторов, индуцируя увеличение кровотока, возможно, в результате

эндотелиальной гиперполяризации [10]. Предполагают, что эта гиперполяризация изменяется по ширине капиллярного русла в зависимости от скорости доставки эритроцитов и потока кислорода из них, для обеспечения метаболизма. Поэтому капиллярное русло можно рассматривать как наиболее эффективное место коммуникации эритроцитов с тканями с целью обеспечения их потребностей в кислороде. Электрически связанные эндотелиальные клетки передают интегрированный сигнал вверх «по течению» к артериолам для регуляции сосудистого сопротивления. Таким образом, может осуществляться регуляция транспорта O_2 в ткани и его распределение с помощью освобождения АТФ из эритроцитов в капиллярных сетях [11].

Таким образом, микрореологические свойства эритроцитов могут быть факторами регуляции сосудистого тонуса: во-первых, за счет метаболической саморегуляции, компенсационного расширения сосудов, вследствие изменения в естественных условиях кровотока и органной/тканевой гипоксии, а во-вторых, благодаря активации эндотелиальной функции (например, производства NO) под влиянием напряжения сдвига, что приводит к изменениям сосудистого сопротивления [12]. Недавно было показано, что эритроциты могут обратимо связывать, транспортировать, и выделять NO в системе кровообращения [13]. Были получены доказательства того, что эритроциты человека экспрессируют активную и функциональную NOS (eNOS), которая локализована в мембране и цитоплазме клетки. Эта NOS регулируется ее субстратом L-аргинином, кальцием и при фосфорилировании PI3 киназы. Активность NOS эритроцитов влияет на их деформируемость, а также ингибирует активацию тромбоцитов. Эти данные показывают, что eNOS в эритроцитах обеспечивают регуляцию эритроцитов и тромбоцитов, что может стимулировать новые подходы в коррекции NO дефицитных состояний, присущих ряду сосудистых и гематологических заболеваний [14]. Было продемонстрировано, что NO выделяется эритроцитами при определенных обстоятельствах и показано, что eNOS может быть активирована механическими факторами, например изменением напряжения сдвига на стенке в диапазоне от 0,5 до 2,0 Па. Результаты этих исследований подтверждают предположение о том, что синтез NO в эритроцитах и экспорт этой молекулы из клеток повышается при механическом стрессе [7].

Заключение

Таким образом, проведенный анализ литературы по оценке исследований в двух близких научных дисциплинах: микроциркуляции и гемореологии, показал, что имеются объективно сосуществующие точки взаимодействия между микрососудистой перфузией и реологическими свойствами крови и микроциркуляцией ее форменных элементов (рис. 1). В первую очередь это состояние микроциркуляционных свойств самых клеток крови, деформируемости и агрегации эритроцитов, а также активации и адгезии лейкоцитов.



Рис. 1. Схема микрососудистых эффектов реологических характеристик крови.

Оптимальная величина вязкости цельной крови, вязкости плазмы и гематокрита тоже имеют регуляторное значение для обеспечения необходимой перфузии тканей, за счет генерации определенной величины напряжения сдвига на эндотелии сосудов и для последующего выделения оксида азота. Деформируемость эритроцитов в первую очередь является критическим фактором в обменных капиллярах, лишенных мышечных элементов своей сосудистой стенки для изменения сосудистого тонуса. Приrost деформируемости эритроцитов положительно сказывается на

капиллярной перфузии. Кроме того, увеличение деформируемости эритроцитов сочетается с их способностью к экзоцитозу сигнальных молекул (АТФ, NO).

Деформация эритроцитов в потоке способствует их ориентации, выходу на осевую позицию и тем самым реализуется эффект Фареуса-Линдквиста, следствием которого – снижение сопротивления кровотоку [1].

Другая микрореологическая характеристика эритроцитов – их агрегация обычно *in vivo* реализуется в посткапиллярных венулах и тем самым способствует приросту сопротивления в этом сосудистом отделе и активизации фильтрационного механизма в капиллярах. Выход агрегатов эритроцитов на осевую позицию в сосуде является частью эффекта Фареуса-Линдквиста. Таким образом, можно заключить, что каждая из основных гемореологических характеристик прямо или косвенно влияют на состояние микроциркуляции и, следовательно, на перфузию и оксигенацию тканей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и БРФИ в рамках научного проекта №20-515-00019\20-А

Библиографический список

1. Popel A.S. and Johnson P.C. Microcirculation and Hemorheology // *Annu Rev Fluid Mech.* 2005. V. 37. 43-69.

2. Куприянов В.В., Караганов Я.Л., Козлов В.И. Микроциркуляторное русло. М.: Медицина, 1975. 216 с.

3. Каро К., Педли Т., Шротер Р., Сид У. Механика кровообращения. М.: Мир, 1981. 623 с.

4. Dintenfass L. Theoretical aspects and clinical applications of the blood viscosity equation containing a term for the internal viscosity of the red cell // *Blood Cells.* 1977. Vol.3. 367-374.

5. Муравьев А.В., Чепоров С.В. Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови). Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2009. 178 с.

6. Menger M.D., Kerger H., Geisweid A. et al. Leukocyte-endothelium interaction in the microvasculature of postischemic striated muscle // *Adv Exp Med Biol.* 1994. V.361. 541-545.

7. Ulker P., Sati L., Celik-Ozenci C., Meiselman H.J., Baskurt O.K. Mechanical stimulation of nitric oxide synthesizing mechanisms in erythrocytes // *Biorheology.* 2009. V.46. 121-132.

8. Sprague R.S., Ellsworth M.L. Erythrocyte-derived ATP and perfusion distribution: role of intracellular and intercellular communication // *Microcirculation*. 2012. V.19, № 5. 430–439.

9. Adderley S.P. Sprague R.S., Stephenson A.H. Regulation of cAMP by phosphodiesterases in erythrocytes. *Pharmacol. Rep.* 2010. V. 62. 475-482.

10. Wang L., Olivecrona G., Gotberg M. ADP acting on P₂Y₁₃ receptors is a negative feedback pathway for ATP release from human red blood cells // *Circ. Res.* 2005. V. 96. 189–196.

11. Ellis C.G., Milkovich S., Goldman D. What is the efficiency of ATP signaling from erythrocytes to regulate distribution of O₂ supply within the microvasculature? // *Microcirculation*. 2012. V. 19. 440–450.

12. Hamlin S.K., Benedik P.S. Basic concepts of hemorheology in microvascular hemodynamics. *Crit. Care Nurs. Clin. North Am.* 2014. Vol. 26, № 3. P. 337–344.

13. Bor-Kucukatay M., Wenby B., Meiselman H.J., Baskurt O.K. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2003. V. 284(5). 1577–1584.

14. Kleinbongard P., Schulz R., Rassaf T., et al. Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase // *Blood*. 2006. V.107. 2943-2951.

УДК. 612.1;591.11;577.353

А.В. Муравьев, И.А. Тихомирова, Е.П. Петроченко, С.В. Булаева, Е.Л. Волкова, А.В.Замышляев

КОРРЕКЦИЯ МИКРОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ЭРИТРОЦИТОВ ДОНОРАМИ ГАЗОТРАНСМИТТЕРОВ

Аннотация. Стимулирование клеток с помощью α -1-агониста, фенилэфрина (ФЭ) широко применяется в экспериментальной практике. Поскольку основной механизм действия ФЭ на клетки связан с открытием Ca²⁺ каналов мембран, в том числе и эритроцитов, то целью данной работы было исследование, на модели микрореологических ответов эритроцитов на ФЭ, возможности коррекции их микрореологии с помощью газотрансмиттеров (ГТ) - оксид азота (NO) и сульфид водорода (H₂S).

© А.В. Муравьев, И.А. Тихомирова, Е.П. Петроченко, С.В. Булаева, Е.Л. Волкова, А.В.Замышляев, 2022