

Физиологическая сепарация эритроцитов на уровне дуги аорты

Медведев М.А., Коваль Г.С., Рязанцева Н.В.

Physiological separation of erythrocytes in aortic arch

Medvedev M.A., Koval G.S., Ryazantseva N.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Медведев М.А., Коваль Г.С., Рязанцева Н.В.

Экспериментально установлено распределение эритроцитов на уровне дуги аорты по структурно-функциональным признакам. Показано существование механизма физиологической сепарации эритроцитов, который обуславливает преимущественное поступление более молодых и функционально полноценных форм эритроцитов в головной мозг и способствует улучшению снабжения кислородом нервных клеток.

Ключевые слова: дуга аорты, эритроциты, поверхностная архитектура, Na^+, K^+ -АТФ-аза.

The erythrocyte distribution at the level of aortic arch is determined experimentally from structural-functional features. It is shown that there exists the mechanism of physiological separation of erythrocytes, which causes the prevalent income of younger and functionally valid forms of erythrocytes to brain and favors better oxygen supply of nerve cells.

Key words: aortic arch, erythrocytes, surface architectonics, Na^+, K^+ -ATPase.

УДК 612.111:611.132

Введение

В настоящее время существует гипотеза о наличии механизма сепарации эритроцитов по признаку зрелости на уровне дуги аорты [3]. Это явление рассматривается как часть общебиологического эволюционного процесса, способствующего адекватному кислородному и энергетическому снабжению клеток головного мозга. Обеспечить соответствие кровотока кислородному запросу позволяет преимущественное поступление в головной мозг молодых, функционально полноценных эритроцитов. В 1985—1990 гг. на кафедре нормальной физиологии Сибирского государственного медицинского университета (г. Томск) были получены приоритетные данные путем исследования среднего диаметра красных кровяных клеток, их сухой массы, кислотного гемолита эритроцитов из сонной и бедренной артерий, позволившие продемонстрировать существование разделения красных клеток крови на уровне дуги аорты на молодые, функционально полноценные, и на более зрелые формы.

В механизмах формирования гипоксии головного мозга при различных патологических изменениях дуги аорты и аортального клапана сердца немаловажное значение может играть нарушение распределения эритроцитов по каче-

ственному признаку между общей сонной артерией и другими крупными сосудами, отходящими от дуги аорты. Результатом этого может являться нарушение адекватного участия красных кровяных клеток в газообмене, обусловленном их уникальной способностью к деформации в мелких сосудах головного мозга. Известно, что ключевую роль в определении структурной организации и функционирования эритроцита играет его мембрана. Деформируемость эритроцитов во многом определяется их морфологическими свойствами, стабильностью ионного гомеостаза, сбалансированностью молекулярной организации белковых и липидных компонентов мембраны эритроцита [1, 5, 6].

В этой связи при изучении механизмов сепарации эритроцитов очевидна необходимость детальной оценки состояния мембраны и ее компонентов, что позволит более полно и эффективно изучить процессы адаптации, направленные на предотвращение гипоксических состояний головного мозга.

С целью изучения закономерностей перераспределения красных кровяных клеток в дуге аорты в настоящем исследовании проводилась оценка морфологического статуса эритроцитов крови кроликов, полученной из

кровеносных сосудов разного уровня — аорты, общей сонной и бедренной артерий.

Материал и методы

Эксперименты проведены на 10 кроликах обоих полов. Кровь получали с помощью катетеризации общей сонной артерии, дуги аорты и бедренной артерии. Кровь стабилизировали гепарином (50 ЕД/мл). Все вмешательства осуществляли с соблюдением принципов Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1989).

Топографию поверхности эритроцитов исследовали методом сканирующей электронной микроскопии. Образцы готовили по методике Г.И. Козинца и соавт. [3]. Для этого пробы крови фиксировали в 2,5%-м растворе глутарового альдегида. После отмывания эритроцитарной взвеси фосфатным буфером (рН = 7,4) осуществляли постфиксацию материала 1%-м раствором четырехоксида осмия. После повторного отмывания клеток фосфатным буфером проводили их обезвоживание в серии этанола возрастающей концентрации (от 30 до 100%) и в ацетоне. Приготовленную суспензию наносили на алюминиевые подложки, высушивали, напыляли ультратонким слоем серебра. Готовые образцы изучали в электронном микроскопе JEM-10 (Япония) при ускоряющем напряжении 35 кВ, силе тока 0,63 А, под углом наклона 35°. Для получения количественной характеристики распределения морфологических форм эритроцитов в каждом препарате подсчитывали 1 тыс. клеток [1, 3]. Исследовали активность Na^+, K^+ -АТФ-азы по содержанию неорганического фосфора P_i в мембранных препаратах при инкубации в среде, ммоль: NaCl — 125; KCl — 25; MgCl_2 — 3; ЭДТА —

0,5; АТФ — 2; трис- HCl — 50 (рН = 7,4), при температуре 37 °С в течение 1 ч [2].

Результаты анализировали статистическими методами с проверкой показателей на нормальность распределения с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Достоверность различий ($p < 0,05$) определяли с использованием непараметрического критерия Вилкоксона.

Результаты

Исследование поверхностной архитектоники эритроцитов выявило изменение процентного соотношения морфологических форм красных кровяных клеток у кроликов в сосудах разного уровня. В качестве образца крови до сепарации эритроцитов в дуге аорты использовалась кровь, взятая из нижней части восходящей аорты до отхождения плечеголового ствола и других крупных сосудов. Относительное содержание двояковогнутых дискоцитов из аорты составляло $(87,30 \pm 0,25)\%$, переходных форм эритроцитов — $(7,60 \pm 0,18)\%$, необратимо трансформированных и дегенеративных — $(4,10 \pm 0,20)$ и $(1,00 \pm 0,16)\%$ соответственно. При оценке особенностей поверхностного рельефа эритроцитов крови, полученных из общей сонной и бедренной артерий, выявлено значительное перераспределение морфологических форм (таблица). Так, количество трансформированных эритроцитов в бедренной артерии достоверно превышало их количество в сонной артерии и восходящей аорте, количество функционально полноценных двояковогнутых дискоцитов в сонной артерии превышало количество этих форм в бедренной артерии и восходящей аорте.

Изменение численности морфологических форм эритроцитов в зависимости от места забора крови из артериальной системы, %

| Морфологическая форма эритроцитов | Восходящая аорта (n = 10) | Общая сонная артерия (n = 10) | Бедренная артерия (n = 10) |
|--|---------------------------|--------------------------------------|---|
| Двояковогнутые дискоциты | $87,30 \pm 0,25$ | $88,70 \pm 0,67$ ($p_1 < 0,01$) | $82,80 \pm 0,40$ ($p_1, p_2 < 0,01$) |
| Переходные формы эритроцитов | $7,60 \pm 0,18$ | $7,20 \pm 0,32$ ($p_1 < 0,01$) | $9,50 \pm 1,20$ ($p_1, p_2 < 0,01$) |
| Предгемолитические (необратимо измененные) формы | $4,10 \pm 0,20$ | $3,56 \pm 0,20$ ($p_1 < 0,01$) | $5,20 \pm 0,21$ ($p_1, p_2 < 0,01$) |
| Дегенеративные формы | $1,00 \pm 0,16$ | $0,57 \pm 0,06$ ($p_1 < 0,01$) | $1,63 \pm 0,13$ ($p_1, p_2 < 0,01$) |

Примечание. p_1 — достоверность различий выборки по сравнению с восходящей аортой; p_2 — достоверность различий выборки по сравнению с общей сонной артерией.

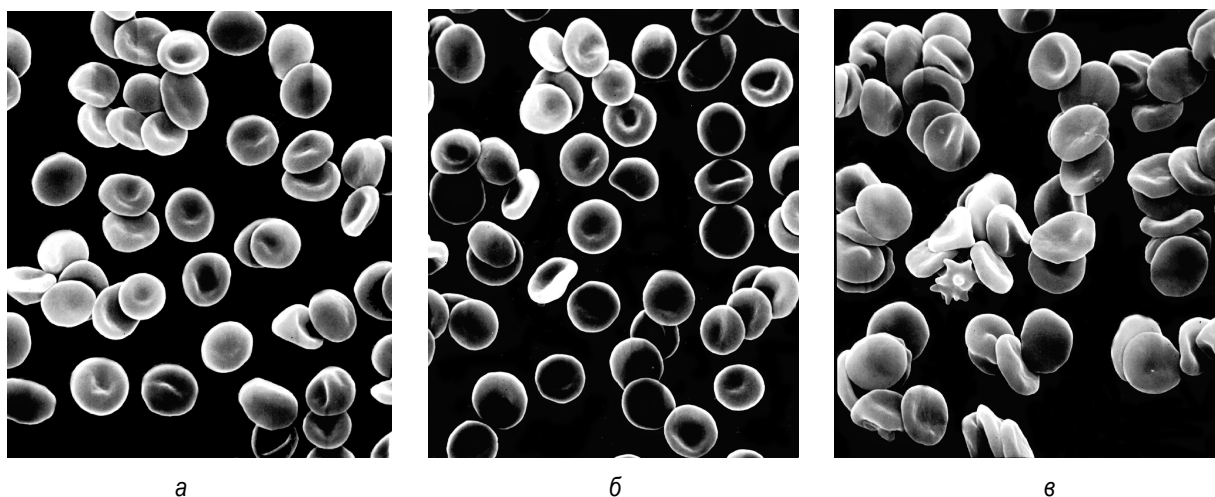
При оценке поверхностной архитектоники эритроцитов из сонной артерии обращало на себя внимание увеличение

численности популяции двояковогнутых дискоцитов по сравнению с аортой на 2%, снижение уровня переходных форм

на 5%. Крайне редко встречались в сонной артерии необратимо трансформированные предгемолитические формы (на 16% меньше, чем в аорте): куполообразные, сфероциты и эритроциты в виде спущенного мяча. Содержание дегенеративно измененных форм в сонной артерии было уменьшено по сравнению с аортой на 75%. Число двояковогнутых дискоцитов крови из бедренной артерии снижено по сравнению с аортой на 5%. Было выявлено увеличение численности переходных, необратимо трансформированных и дегенеративных форм в бедренной артерии по сравнению с аортой приблизительно на 25%. Содержание двояковогнутых дискоцитов в сонной артерии по сравнению с их количеством в бедренной было повышено в среднем на 9,3%. Количество переходных форм эритроцитов, способных при определенных благоприятных физиологических условиях к обратной трансформации в дискоциты, в бедренной артерии превышало на 31,8% содержание в сонной артерии, необратимо измененных эритроцитов было выше на 46,1% и дегенеративных — в 2,86 раза (рисунок).

Численность субпопуляции необратимо трансформированных эритроцитов в бедренной артерии кроликов значительно превосходила количество предгемолитических форм клеток в сонной артерии: число куполообразных эритроцитов — на 12,1%, сфероцитов — в 2 раза, клеток в виде спущенного мяча — на 11,2%.

Механизм трансформации эритроцитарных мембран связан с нарушением функционирования ионо-транспортной системы. К их числу относится Na^+, K^+ -АТФ-аза, играющая важную роль в поддержании ионного гомеостаза и сохранении функциональной активности эритроцитов. Активность Na^+, K^+ -АТФ-азы в мембране эритроцитов, выделенных из дуги аорты, составляла $(0,097 \pm 0,006)$ мкмоль $\text{P}_i/(\text{ч} \cdot \text{мг белка})$, эритроцитов, выделенных из бедренной артерии, — $(0,089 \pm 0,005)$ мкмоль $\text{P}_i/(\text{ч} \cdot \text{мг белка})$, из сонной артерии $(0,115 \pm 0,005)$ мкмоль $\text{P}_i/(\text{ч} \cdot \text{мг белка})$. Активность Na^+, K^+ -АТФ-азы в мембране эритроцитов, полученных из разных отделов артериальной системы, достоверно отличалась при $p < 0,01$ и $n = 24$. Активность данного фермента в красных клетках крови в сонной артерии отличалась от таковой в аорте на 18,5%, в бедренной артерии от аорты — на 9,3%. Активность Na^+, K^+ -АТФ-азы в мембране эритроцитов в бедренной и сонной артериях отличалась на 27,8%. Согласно литературным данным [7—9], у зрелых и более молодых эритроцитов кролика различие в активности Na^+, K^+ -АТФ-азы составляет приблизительно 50%, следовательно, можно сделать вывод о существовании физиологической сепарации эритроцитов в дуге аорты по функциональным и морфологическим признакам.



Морфологические свойства эритроцитов, полученных из аорты (а), сонной артерии (б), бедренной артерии (в) кролика. На электронных микрофотографиях эритроцитов, полученных из аорты, видны множество двояковогнутых дискоцитов и небольшое количество трансформированных эритроцитов с единичными предгемолитическими формами (а), на микрофотографиях эритроцитов из сонной артерии количество двояковогнутых дискоцитов больше, в то время как трансформированных эритроцитов значительно меньше (б), нарушения формы и рельефа поверхности эритроцитов крови, полученных из бедренной артерии, проявляются с возрастом среди эритроцитов числа трансформированных клеток (дискоциты с гребнем, выростами; эритроциты в виде тутовой ягоды, плоского диска; дегенеративно измененные эритроциты)(в). Ув. 1 500

Обсуждение

Процесс морфологической трансформации во время старения эритроцитов имеет многофакторный характер. Из-

вестно, что в норме длительность жизни эритроцитов поддерживается в течение 120 дней специализированными ферментными системами [10]. В таких условиях закономерны изменения липидного состава и нарушение белок-липидных взаимодействий в мембране эритроцитов, снижение ее текучести, что приводит к изменению формы клетки [4, 6, 8]. Результатом этих процессов является угнетение активности Na^+, K^+ -АТФ-азы в мембране эритроцитов [7]. Таким образом, выявленные морфологические различия эритроцитов, полученных из бедренной и сонной артерий, у экспериментальных животных свидетельствуют о выраженном процессе сепарации эритроцитов по структурно-функциональным свойствам. Более молодые, функционально полноценные формы эритроцитов поступают преимущественно в головной мозг, тогда как более старые, трансформированные формы эритроцитов при движении в дуге аорты — в нисходящую аорту.

Заключение

Нарушение распределения эритроцитов по микрореологическим свойствам в дуге аорты можно считать фактором, способствующим усугублению гипоксического состояния головного мозга при различных патологиях, связанных с повреждением или изменением эластических свойств стенки дуги аорты. Данный процесс имеет большое биологическое и медицинское значение и требует изучения при различных патологических состояниях, что будет способствовать разработке новых подходов при проведении хирургических операций на дуге аорты и клапанах сердца, не нарушающих распределения эритроцитов на уровне дуги

аорты. Усовершенствование технологий проведения операций, в свою очередь, будет способствовать снижению риска развития послеоперационных осложнений, связанных с нарушением снабжения кислородом головного мозга.

Литература

1. *Ионов Б.В., Чернух А.М.* Морфологическая характеристика эритроцитов артериальной и венозной крови крысы по данным сканирующей электронной микроскопии // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1981. Т. 92. № 12. С. 749—751.
2. *Казеннов А.М., Маслова М.Н., Шалабодов А.Д.* Исследование активности Na^+, K^+ -АТФ-азы в эритроцитах млекопитающих // Биохимия. 1984. № 7. С. 1089—1094.
3. *Козинец Г.И., Симоварт Ю.А.* Поверхностная архитектура клеток периферической крови в норме и при заболеваниях системы крови. Таллин: Валгус, 1984. 116 с.
4. *Медведев М.А., Голосов О.С., Нестерова Т.П.* Распределение эритроцитов в кровеносном русле на уровне дуги аорты по данным морфологических исследований // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1986. № 12. С. 648—649.
5. *Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А.* Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2004. 202 с.
6. *Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. и др.* Атлас. Клинический патоморфоз эритроцитов. Томск: Изд-во Том. ун-та; М.: ГЕОТАР-МЕД, 2003. 208 с.
7. *Amano M., Imataka K., Suzuki K., Nakaoka H., Fuji J.* Age-related reduction in the number of rabbit erythrocyte Na, K -ATPase // Tohoku J. Exp. Med. 1989. V. 159 (2). P. 131—137.
8. *Brugnara C., de Franceschi L.* Effect of cell age and phenylhydrazine on the cation transport properties of rabbit erythrocytes // J. Cell Physiol. 1993. V. 154 (2). P. 271—280.
9. *Chalfin D.* Differences between young and mature rabbit erythrocytes // J. Cellular and Comparative Physiology. 1956. V. 47. Issue 2. P. 215—243.
10. *Chen X., Huang Y., Liu W., Yuan Z.* Membrane surface charge and morphological and mechanical properties of young and old erythrocytes. 2007. Current Applied Physics. V. 7. Sup. 1. P. e94—e96.

Поступила в редакцию 24.05.2007 г.