

## СОСТОЯНИЕ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У ДОНОРОВ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП

В. В. Мороз, Е. К. Козлова, М. С. Богушевич, А. М. Черныш,  
У. А. Близнюк, А. П. Козлов, П. Ю. Алексеева

ГУ НИИ Общей реаниматологии РАМН, Москва

### Red Blood Cell Membranes in Donors of Different Age Groups

V. V. Moroz, Ye. K. Kozlova, M. S. Bogushevich, A. M. Chernysh,  
U. A. Bliznyuk, A. P. Kozlov, P. Yu. Alekseyeva

Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

В статье рассматривается метод электропорации для оценки степени воздействия на биологическую мембрану у доноров разных возрастных групп. Показано, что чем старше донор, тем выше скорость гемолиза. Таким образом, метод электропорации в связи с его простотой может быть апробирован в клинике для диагностики состояния мембран эритроцитов у людей разных возрастных групп для дальнейших исследований.

The paper describes an electroporation technique in order to evaluate its action on a biological membrane in donors of different age groups. It is shown that the older the donor is, the higher the rate of hemolysis is. Thus, owing to its simplicity, the electroporation technique may be clinically tested to diagnose the status of red blood cell membranes in subjects from different age groups for further studies.

Одним из важных показателей функционирования организма является эффективность снабжения тканей кислородом. Количество кислорода, которое получают клетки, определяет состояние мембран эритроцитов. Мембраны эритроцитов могут менять свои свойства в зависимости от индивидуальных особенностей организма, от внешних воздействий, заболеваний, возраста. При проведении реанимационных мероприятий, при переливании крови, при электрической дефибриляции сердца мембраны клеток крови подвергаются многим различным воздействиям. Оценка возможной степени таких воздействий в зависимости от возраста пациента является актуальной задачей реаниматологии.

Цель работы: показать различие состояний мембран эритроцитов людей различных возрастных групп с помощью метода электропорации.

### Материалы и методы

Данный метод использовался ранее для исследования состояния мембран эритроцитов человека в результате воздействия различных физико-химических факторов [1–3].

Для проведения исследования была взята кровь у 9 разных доноров: женщины в возрасте 20, 23, 25, 45, 65 и 70 лет и мужчины в возрасте 23, 30 и 65 лет. Из каждой порции крови были приготовлены суспензии эритроцитов в 0,9% растворе NaCl в концентрации  $0,23 \cdot 10^{12}$  эритроц/л. Мембраны эритроцитов подвергались действию импульсного электрического поля. В качестве источника электрического поля использовали клинический дефибриллятор Liferak-7, создающий в суспензии напряженность поля 1700 В/см, энергия электрического им-

пульса 230 Дж, длительность импульса 6 мс. Эффект воздействия электрического импульса на мембраны эритроцитов оценивали сравнением кинетики гемолиза эритроцитов в суспензии после воздействия электрическим импульсом с соответствующей контрольной суспензией. Мгновенное количество эритроцитов в суспензиях определяли по оптической плотности раствора с помощью фотоэлектроколориметра КФК-2МП. Более подробно методика экспериментов описана в работах [1–3].

Для выбора температурного режима была проведена серия опытов по электропорации мембран эритроцитов (345 опытов). Суспензию крови одного человека термостатировали при различных температурах от 15 до 37°C и далее подвергали воздействию стандартного импульса электрического поля, а затем регистрировали кинетику гемолиза эритроцитов суспензии. На рис. 1 показан график зависимости средней скорости уменьшения числа эритроцитов от температуры суспензии. Скорость гемолиза в интервале температур 18–23°C лежит на линейном участке характеристики, который и является оптимальным для исследования кинетики гемолиза при воздействии различных физико-химических факторов на эритроциты. Поэтому все эксперименты проводились при температуре,  $t=20^\circ\text{C}$ , в режиме термостатирования суспензии в процессе её приготовления, хранения и электропорации.

### Результаты и обсуждение

На рис. 2 представлены кинетические кривые уменьшения численности эритроцитов суспензий женской и мужской групп доноров после воздействия импульсом электрического поля. Как следует из рисунков 2а и 2б, чем старше донор, тем мгновенная скорость уменьшения количества эритроцитов больше в данный момент времени. Эта зако-

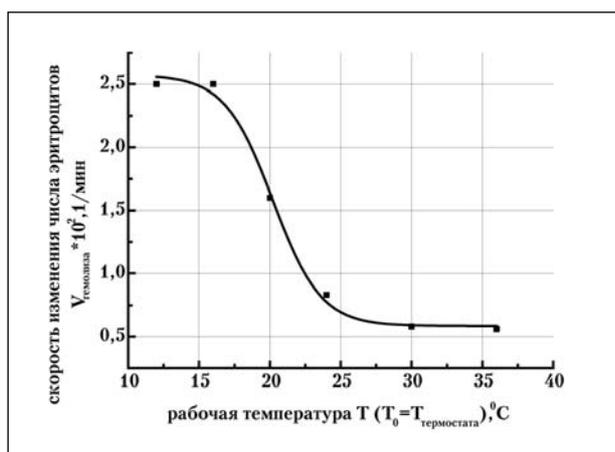


Рис. 1. Зависимость средней скорости уменьшения числа эритроцитов в результате электропорации от температуры суспензии.

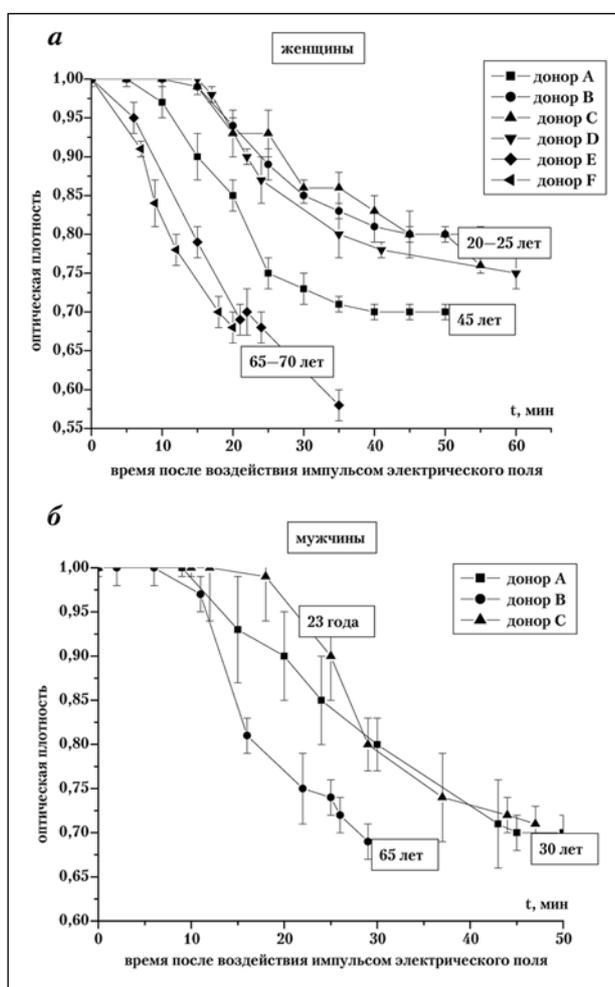


Рис. 2. Кинетические кривые зависимости уменьшения количества эритроцитов со временем после воздействия импульсом электрического поля для суспензий крови женщин (а) и мужчин (б).

номерность характерна как для женской группы доноров, так и для мужской. Для аналитического описания данного эффекта была проведена математическая обработка данных. Кривые гемолитического процесса рассматривали как сумму экспоненциальных зави-

Величины максимальных констант скоростей  $\gamma$  и начальных промежутков времени, когда гемолиз не наблюдался  $\tau$  для каждого донора

Донор	$\gamma$ , 1/мин	$\tau$ , мин
женщина 70 лет	0,18	4
— 65 лет	0,17	6
— 45 лет	0,11	11
— 25 лет	0,09	21
— 23 года	0,07	19
— 20 лет	0,09	20
мужчина 65 лет	0,2	11
— 30 лет	0,08	14
— 23 года	0,05	22

симостей вида  $N(t)=A \cdot \exp(-\gamma \cdot t)$  с различными коэффициентами  $\gamma$  — константа скорости уменьшения количества эритроцитов для данного промежутка времени. На начальных участках кривых гемолитического процесса (от 4 до 20 мин для различных доноров)  $\tau$  была близка к 0 — гемолиз не наблюдался. На интервале 10–40 мин, для различных доноров, константа скорости увеличивалась (то есть начинался гемолиз эритроцитов), а затем, на конечном этапе процесса  $\gamma$  существенно уменьшалась. Для различных возрастных групп начальные временные интервалы  $\tau$ , на которых гемолиз не наблюдался ( $\gamma$  близка к 0), были различными. Поэтому сравнение проводилось по длительности начального промежутка времени, в течение которого  $\tau$  была близка к 0. Другим критерием оценки различий состояния мембран в разных возрастных группах были максимальные величины констант скоростей для каждого донора. В таблице представлены величины  $\gamma$  и  $\tau$  для каждого донора.

Чем старше донор, тем больше у него константа скорости  $\gamma$  и меньше  $\tau$ . То есть, с возрастом состояние мембран эритроцитов изменялось и они становились более подвержены воздействиям внешнего импульсного электрического поля.

Количество возникающих в мембране пор и их радиус в результате действия импульсного электрического поля определяются наведенным трансмембранным потенциалом и пороговым потенциалом электрического пробоя  $\phi_{\text{пор}}$ . Выделим поверхность мембраны единичной площади и разобьем эту площадь на  $N$  одинаковых областей, в каждой из которых может образоваться пора. Образование поры зависит от собственных свойств мембраны. Мембрана эритроцита изначально неоднородна по своим электрохимическим свойствам. Поэтому в различных участках мембраны  $\phi_{\text{пор}}$  неодинаковые. Собственные свойства каждого из  $N$  участков определяют два параметра электропорации:  $\phi_{\text{пор}}$  и радиус поры. Суммарная площадь образовавшихся пор после электропорации определяется величиной  $\phi_{\text{пор}}$  и средним пороговым потенциалом по всей мембране эритроцита  $\phi_{\text{пор ср}}$ . Из результатов опытов следует, что чем больше возраст донора, тем больше суммарная площадь обра-

зовавшихся пор в результате воздействия импульсного электрического поля. Это связано с уменьшением  $\phi_{\text{пор ср}}$ . При возникновении заболеваний, влияющих на мембрану эритроцита, то есть приводящих к уменьшению  $\phi_{\text{пор ср}}$ , будет наблюдаться увеличение скорости гемолиза эритроцитов по сравнению с таковой здорового человека.

Серия представленных в работе опытов показала универсальность используемого в ней ме-

тода электропорации мембран. Этот метод использовался для оценки степени воздействия физико-химических факторов на мембрану [1–3], а в данной работе используется для диагностики состояния мембран эритроцитов у разных возрастных групп. Данный метод, в связи с его универсальностью и относительной простотой, может быть апробирован в клинике для проведения дальнейших исследований.

#### Литература

1. Козлова Е. К., Черняев А. П., Черныш А. М., Алексеева П. Ю. Исследование воздействия гамма-излучения на эритроциты с помощью электропорации. Вестн. Моск. ун-та. Сер. 3. Физика. Астрономия 2005; 3: 24–27.
2. Мороз В. В., Черныш А. М., Бозушевич М. С. и др. Экспериментальное исследование действия дефибриллирующих импульсов разной формы на биологические мембраны. Бюл. эксперим. биологии и медицины 2004; 137 (2): 140–144.
3. Мороз В. В., Козлова Е. К., Бозушевич М. С. и др. Перфторан в суспензии крови. Эффекты закрепляющего и разрушающего действия на модифицированные электрическими импульсами мембраны. Общая реаниматология 2005; 1 (3): 5–10.

Поступила 14.12.05

## ОБЩАЯ РЕАНИМАТОЛОГИЯ

Научно-практический журнал «Общая реаниматология» издание Федерального масштаба, входящий в перечень ВАК РФ, предназначенное для врачей анестезиологов-реаниматологов и научных сотрудников

**Тематика журнала:** патогенез, клиника, диагностика, лечение, профилактика и патологическая анатомия критических, терминальных и постреанимационных состояний. Вопросы оказания догоспитальной помощи при критических состояниях. Вопросы обучения населения и медицинского персонала приемам оказания неотложной помощи при критических состояниях.

**Аудитория:** лечебные учреждения; высшие учебные заведения медицинского профиля; медицинские учреждения последипломого образования, Федеральные и региональные органы управления здравоохранением, медицинские научно-исследовательские институты; медицинские библиотеки.

## ПОДПИСКА

В любом почтовом отделении связи по каталогу «Роспечать»

- индекс 46338 — для индивидуальных подписчиков
- индекс 46339 — для предприятий и организаций

Через отдел подписки Издательского дома «Красная площадь» (тел.: 231-42-03)  
по льготным ценам:

*Для индивидуальных подписчиков:*

6 месяцев	485,00 руб
12 месяцев	905,00 руб

*Для предприятий и организаций:*

6 месяцев	855,00 руб
12 месяцев	1605,00 руб