

НАУЧНАЯ СТАТЬЯ

УДК 577.355

**НЕЛИНЕЙНЫЕ ЭФФЕКТЫ ДИНАМИКИ ОСЕДАНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ
В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И В МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ ПРИ РАЗВЕДЕНИИ
РАСТВОРАМИ ПОЛИМЕРОВ (ДЕКСТРАНОВ). КРОВЬ КАК АКТИВНЫЙ
КОЛЛОИД****Екатерина Владимировна Буравлева¹, Владимир Леонидович Воейков²,
Сергей Эмильевич Кондаков³**^{1,2} Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет**Автор, ответственный за переписку:** Екатерина Владимировна Буравлева, b_u_k_a@mail.ru

Аннотация. Изучена динамика седиментации клеток цельной крови и эритроцитарной массы при последовательном разведении растворами декстранов *in vitro*. Выявлены немонотонные изменения оптической плотности границы между эритроцитами, оседающими как в собственной плазме, так и в модельных системах. Регистрируемые на границе оседания клеток колебания средней и мгновенных скорости процесса подтверждают нелинейный и кооперативный характер оседания эритроцитов, что связано с формированием и разделением фаз между клеточной, жидкой и газообразными составляющими крови. Структурная перестройка этой динамической системы может быть модулирована разными способами, например добавлением растворов декстранов, применяемых в клинической практике при кровопотерях, для дезинтоксикации, лечения и профилактики тромбозов и шоковых состояний. Показано, что как степень разведения крови (или модельных систем) декстранами, так и их молекулярная масса изменяют макро-и микрокинетику процесса оседания эритроцитов. Полученные результаты согласуются с фазовой гипотезой оседания клеток крови как биокolloида, а также могут быть использованы в клинической гемотрансфузиологии для подбора индивидуальной дозировки инфузионных растворов.

Ключевые слова: оседание эритроцитов, нелинейная динамика, активная коллоидная система, биокolloиды, декстраны, *in vitro* моделирование физиологических процессов

DOI: 10.55959/MSU0579-9384-2-2023-64-3-278-283

Финансирование. Часть исследований выполнена в рамках госзадания МГУ имени М.В. Ломоносова по теме «Изучение динамических процессов в биохимических и клеточных системах» АААА-А16-116021660025-4.

Для цитирования: Буравлева Е.В., Воейков В.Л., Кондаков С.Э. Нелинейные эффекты динамики оседания эритроцитов в цельной крови и в модельных системах при разведении растворами полимеров (декстранов). Кровь как активный коллоид // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2023. Т. 64. № 3. С. 278–283.

ORIGINAL ARTICLE

STUDY OF BLOOD SEDIMENTATION UNDER A DILUTION OF DEXTRAN SOLUTIONS. BLOOD AS ACTIVE COLLOID SYSTEM

Ekaterina V. Buravleva¹, Vladimir L. Voeikov², Sergey E. Kondakov³

^{1,2} M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology

³ M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Chemistry

Corresponding author: Ekaterina V. Buravleva, b_u_k_a@mail.ru

Abstract. The dynamics of sedimentation of whole blood cells, as well as erythrocyte mass, has been studied during sequential dilution with dextran solutions *in vitro*. Non-monotonic changes in the optical density of the boundary between erythrocytes sedimenting both in their own plasma and in model systems were revealed. The oscillations of both the average rate and the instantaneous rates of the process recorded at the cell sedimentation boundary confirm the non-linear and cooperative nature of erythrocyte sedimentation, which is associated with the formation and separation of phases between the cellular, liquid and gaseous components of blood. The structural rearrangement of this dynamic system can be modulated by various factors, for example, dextran solutions used in clinical practice for blood loss, for detoxification, treatment and prevention of thrombophlebitis and shock conditions. It was shown that both the degree of dilution of blood or model systems with dextrans and their molecular weight change the macro- and microkinetics of the process of erythrocyte sedimentation. These results are consistent with the phase hypothesis of sedimentation of blood cells as a biocolloid, and can also be used in clinical blood transfusion for selecting an individual dosage of infusion solutions.

Keywords: erythrocyte sedimentation, dextrans, non-linear dynamics, biocolloids, active colloidal system, *in vitro* simulation of physiological processes

Financial Support. Part of the research was carried out within the framework of the state task of Lomonosov Moscow State University on the topic “Study of dynamic processes in biochemical and cellular systems” AAAA16-116021660025-4.

For citation: Buravleva E.V., Voeikov V.L., Kondakov S.E. Study of Blood Sedimentation Under a Dilution of Dextran Solutions. Blood as Active Colloid System // Vestn. Mosk. un-ta. Ser. 2. Chemistry. 2023. T. 64. № 3. S. 278–283.

Ранее [1] нами было показано, что высокое пространственно-временное разрешение при видео-регистрации оседания эритроцитов в крови выявляет существенные немонотонности как в динамике, так и в микрокинетике процесса. Полученные результаты не могут быть объяснены моделями, представляющими кровь как суспензию заряженных макрочастиц (эритроцитов) и их ассоциатов в вязкой среде сложного состава.

Одной из расчетных моделей, способной качественно объяснить наблюдаемые нелинейные эффекты, является модель оседания клеток крови как активного коллоида, в котором поверхностные свойства оседающих частиц меняются в процессе оседания благодаря протекающим био-

химическим реакциям [2]. Эта модель позволила косвенно объяснить тот факт, что характер реакции оседания зависит от метаболического потенциала крови, функционального состояния всех ее форменных элементов и плазмы крови, которые в совокупности зависят от физиологического состояния индивидуума [3, 4].

Цель настоящей работы – изучение динамики процесса оседания эритроцитов в цельной крови (ДОК), а также в отмытой эритроцитарной массе при их последовательном разведении декстранами разного молекулярного веса, применяющимися в клинической практике для гемодилиции при кровопотерях (высокомолекулярные декстраны) и дезинтоксикации (среднемолекулярные декстраны).

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на образцах как венозной, так и капиллярной (взятой из пальца) крови, полученной от здоровых добровольцев-доноров (21 человек). Методика постановки опытов, техника выполнения эксперимента и обработки полученных данных описана нами ранее [1].

При изучении влияния на процесс оседания крови добавки растворов декстранов в лунки предварительно вносили заданный объем тестируемой жидкости, а затем кровь до объема 180 мкл и тщательно перемешивали.

В экспериментах использовали декстраны с молекулярным весом 37,5 и 80 кД («Sigma», США). В качестве растворителя для декстранов применяли физиологический раствор хлорида натрия (0,9% NaCl). Плазму получали центрифугированием в течение 5 мин при 3 тыс. об/мин образца крови, стабилизированного против свертывания. Количество эритроцитов в опытах с модельными системами соответствовало этому

показателю в цельной крови человека (измеряли гематокрит).

Результаты и их обсуждение

Поскольку в процессах оседания эритроцитов в цельной и разведенной крови выявилось много особенностей, не согласующихся со стандартной моделью оседания по закону Стокса, возник вопрос, как будут вести себя эритроциты, составляющие 92–94% всех клеточных компонентов крови, помещенные в различные среды: физиологический раствор, плазму, растворы декстранов. Каким образом происходит оседание эритроцитов, и отличается ли этот процесс от процесса их оседания в цельной крови?

Для ответа на этот вопрос были изучены следующие модельные системы: эритроциты в физиологическом растворе, эритроциты в плазме, эритроциты в 5%-х растворах декстранов с молекулярными массами 37,5 и 80 кД. Для сравнения использовали цельную кровь.

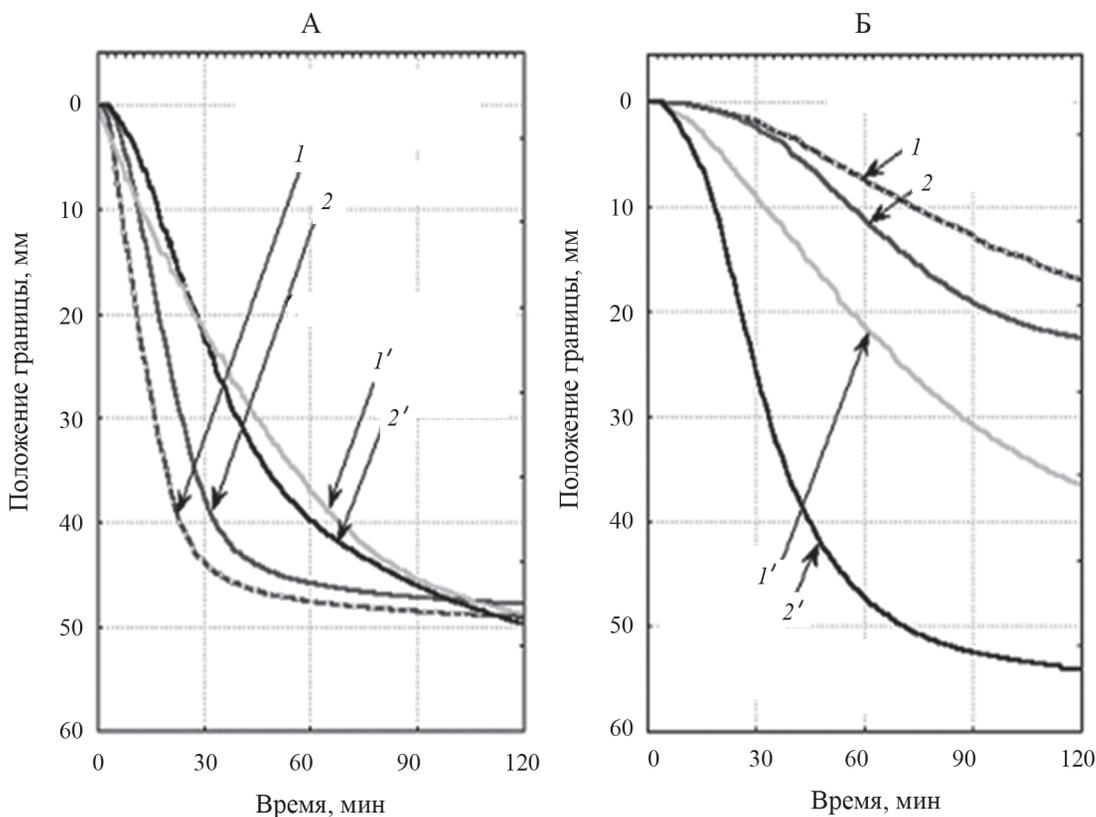


Рис. 1. Сравнение седиментограмм (изменение положения границ оседания) клеток крови, разведенной в разных соотношениях: А – физиологическим раствором (1, 1') и 5%-м декстраном с молекулярной массой 37,5 кД (2, 2'); Б – плазмой (1, 1') и 5%-м декстраном с молекулярной массой 80 кД (2, 2') и (1, 2 – разведение на 5,5%; 1', 2' – разведение на 33,3%)

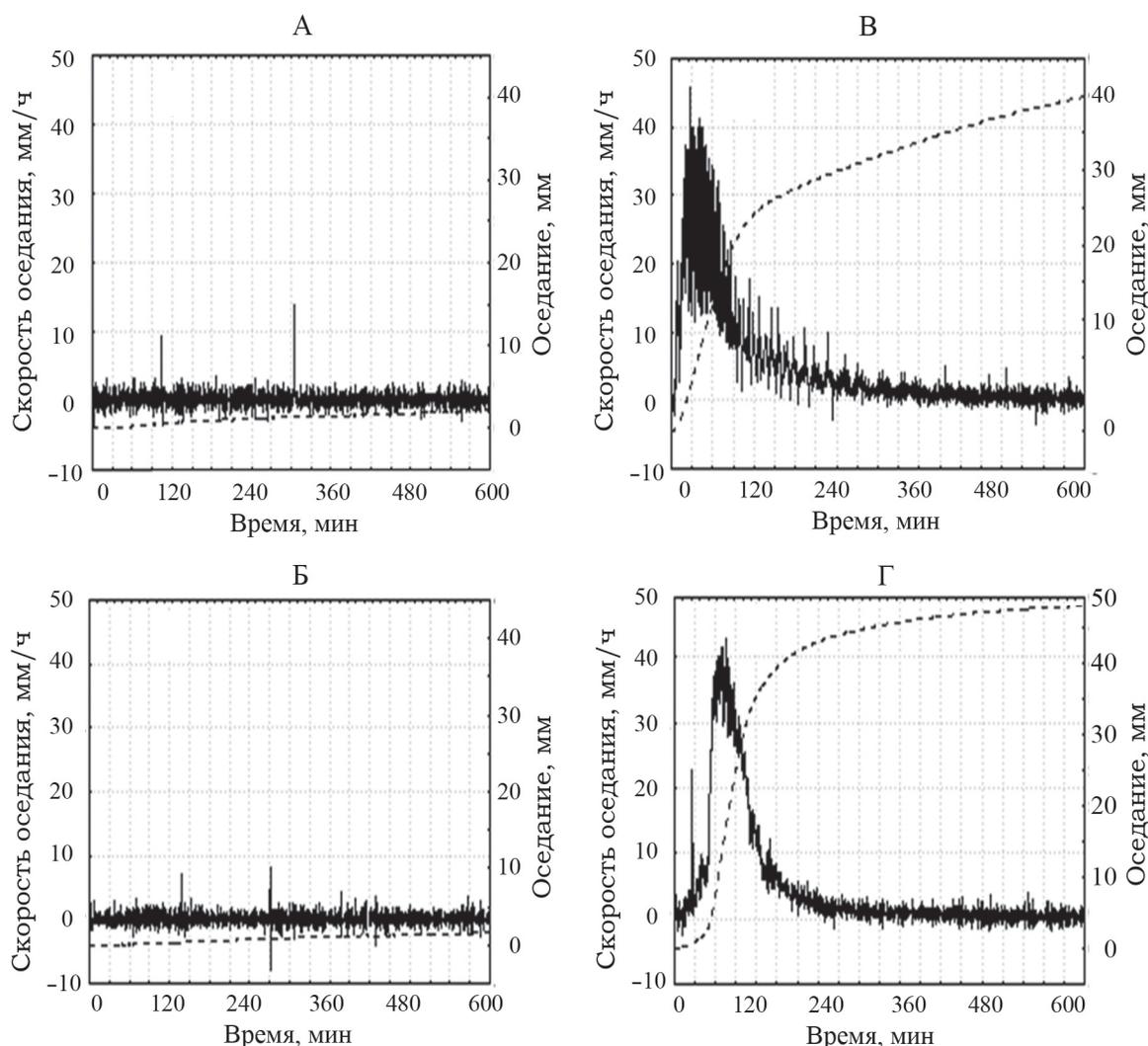


Рис. 2. Сравнение динамики оседания эритроцитов в модельных системах (РОЭ-граммы – сплошная линия, седиментограммы – пунктирная): А – эритроциты / физиологический раствор; Б – эритроциты / 5%-й раствор декстрана (37,5кД); В – эритроциты / собственная плазма; Г – эритроциты / 5%-й раствор декстрана (80кД)

Результаты экспериментов представлены на рис. 1, 2. При увеличении степени разведения цельной крови от 5,5 до 33,3% как физиологическим раствором, так и раствором декстрана (37,5 кД) в первые 1–2 ч оседания наблюдается значительное торможение процесса (рис. 1, А), тогда как для плазмы и раствора декстрана с молекулярной массой 80 кД характерно прогрессирующее ускорение оседания (рис. 1, Б).

Разведение крови (и эритроцитарной массы) физиологическим раствором и растворами декстрана (37,5 кД), препятствующих ассоциации, тормозит процесс оседания – происходит спрямление S-образной формы кривой. В физиологическом растворе и в растворах декстрана с молекулярной массой 37,5 кД оседание эритро-

цитов идет очень медленно, за 10 ч кинетики изменение положения границы составляет всего 1–3 мм (рис. 2, А, Б). При микроскопическом исследовании клеток, разведенных в различных средах, существенных различий не наблюдается. В физиологическом растворе клетки расположены равномерным слоем, в декстране встречаются эритроциты, слипшиеся друг с другом по 2 шт., но их немного.

Увеличение разведения крови, а также отмытой эритроцитарной массы собственной плазмой и растворами декстрана (80 кД), способствующими ассоциации клеток, приводит к прогрессирующему ускорению оседания (рис. 2, В, Г). Оседание отмытых эритроцитов в плазме по форме РОЭ-граммы (динамика изменения мгновенной

скорости оседания клеток за 30-секундные интервалы времени) и седиментограммы (изменение положения границы раздела фаз) напоминает оседание их в цельной крови, но динамические изменения плотности границы плазма – красные клетки носят более выраженный характер (особенно после прохождения максимума скорости оседания) и продолжаются более длительный период времени (более четырех часов). Замена собственной плазмы на 5%-й раствор декстрана (80 кД) еще больше увеличивает скорость оседания клеток: если граница раздела между эритроцитами и чистой плазмой при их оседании в плазме за 2 ч опускается на 28,9 мм, то в 5%-м растворе декстрана (80 кД) – на 36,3 мм. При микроскопическом исследовании эритроцитов в собственной плазме и 5%-м растворе декстрана регистрируются нормальные эритроциты, сгруппированные в монетные столбики.

Полученные здесь и ранее результаты показывают, что динамика оседания крови, разведенной физиологическим раствором, собственной плазмой, дезинтоксикационными и плазмозамещающими растворами (растворами декстранов 37,5 и 80 кД разной концентрации), а также динамика оседания разведенной эритроцитарной массы имеют как общие черты, так и различия, и характеризуются существенной немонотонностью [5, 6].

Согласно фазовой гипотезе ассоциации эритроцитов [4], кровь является водной биокolloидной

системой, содержащей существенно различающиеся по размерам частицы – от белков до клеток. Способность к разделению фаз – общее свойство для водных растворов бинарных или многокомпонентных смесей практически любых водорастворимых полимеров. Вполне возможно, что ассоциация эритроцитов, происходящая в стоящей крови, представляет собой также своего рода разделение фаз, похожее на то, которое наблюдается в водных растворах полимеров.

Очевидно, что чем выше молекулярная масса полимеров (независимо от их химической природы, заряда и степени гидрофобности), тем легче происходит разделение фаз в их растворах. Подтверждением служит существенное ускорение оседания при разведении цельной крови растворами декстрана с молекулярной массой 80 кД, по сравнению с разведением ее растворами декстрана с молекулярной массой 37,5 кД.

По нашему мнению, дальнейшее развитие этого направления может оказаться полезным для дальнейшей разработки модели поведения клеток крови как активного коллоида, а также создания метода контроля индивидуальной дозировки инфузионных растворов, применяемых в клинической практике при кровопотерях, для дезинтоксикации, лечения и профилактики тромбозов и шоковых состояний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Воейков В.Л., Буравлева Е.В., Кондаков С.Э. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2011. Т. 52. № 4. С. 313.
2. Токарев А.А., Кондаков С.Э., Мельников М.Я. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2008. Т. 48. № 4. С. 238.
3. Чижевский А.Л. Биофизические механизмы реакции оседания эритроцитов. Новосибирск, 1980. С. 234.
4. Воейков В.Л. // Усп. физиол. наук. 1998. Т. 29. С. 55.
5. Воейков В.Л., Буравлева Е.В., Кондаков С.Э. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2012. Т. 53. № 6. С. 413.
6. Буравлева Е.В., Воейков В.Л., Кондаков С.Э. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 2022. Т. 63. № 1. С. 71.

Информация об авторах

Буравлева Екатерина Владимировна – ст. науч. сотр. кафедры биоорганической химии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, канд. мед. наук (b_u_k_a@mail.ru);

Воейков Владимир Леонидович – профессор кафедры биоорганической химии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. биол. наук (v109028v1@yandex.ru);

Кондаков Сергей Эмильевич – вед. науч. сотр. кафедры химической кинетики химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, докт. фарм. наук (kse@excite.chem.msu.ru).

Вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Соблюдение этических стандартов

Все исследования биологического материала выполнялись с соблюдением и учетом стандартов Национального комитета по этике в согласии с Хельсинской декларацией 1964 года. Все индивидуумы, сдававшие биоматериал для исследований, были добровольными участниками этих исследований и были информированы о целях и задачах исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 05.09.2022;
одобрена после рецензирования 12.10.2022;
принята к публикации 14.01.2023.