

Литература

1. Mathematical techniques for understanding platelet regulation and the development of new pharmacological approaches / J. L. Dunster, M. A. Panteleev, J. M. Gibbins, A. N. Sveshnikova // *Methods in Molecular Biology*. — Vol. 1661. — Springer New York, 2018. — P. 255–279.
2. Gillespie D.T. Stochastic simulation of chemical kinetics // *Annu.Rev.Phys.Chem.* Dan T Gillespie Consulting, Castaic, CA 91384, USA. GillespieDT@mailaps.org, 2007. Vol. 58, № 0066–426X (Print). P. 35–55.

РОЛЬ АДЕНИЛАТЦИКЛАЗНОГО СИГНАЛЬНОГО КАСКАДА В ИЗМЕНЕНИИ МИКРОМЕХАНИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ

Асп. Семенов А.Н., с.н.с. Ширшин Е.А.,

м.н.с. (ЦИТО им. Н.Н. Приорова) Родионов С.А.

врач-эндокринолог (МНОЦ МГУ) Фабричнова А.А.,

м.н.с. (ВМК МГУ) Устинов В.Д.

проф. (ЯГПУ им. К.Д. Ушинского) Муравьев А.В., доц. Приезжев А.В.

Эритроциты человека — высокоспециализированные клетки. Их основная функция заключается в осуществлении транспорта дыхательных газов (кислорода и углекислого газа), питательных веществ и продуктов клеточного метаболизма в органах и тканях. При течении крови в организме эритроциты подвергаются значительным механическим нагрузкам, проникая в терминальные капилляры, размеры которых значительно меньше среднего диаметра эритроцитов. В этой связи деформируемость эритроцитов (ДЭ) — уникальная биомеханическая особенность обратимо изменять свою форму и размеры — является ключевой характеристикой микроциркуляции. Многие социально-значимые заболевания (сахарный диабет I и II типов, артериальная гипертензия, серповидно-клеточная анемия и др.) характеризуются значительными ухудшениями ДЭ, что приводит к нарушению перфузии крови в тканях и необратимым некротическим последствиям [1]. На физиологическом уровне ДЭ определяется несколькими факторами: (1) отношением поверхности клетки к объему; (2) вязкостью внутреннего содержимого; (3) структурой мембранных белков и примембранного цитоскелета [2]. Несмотря на то, что в процессе эволюции эритроциты лишились систем белкового синтеза, они сохранили молекулярные системы регуляции и точной настройки своих микромеханических свойств в ответ на метаболические запросы организма [3]. Микрореологическое состояние эритроцита как суперпозиция параметров внутриклеточной вязкости и

белковых комплексов цитоскелета регулируется с помощью ионных каналов и насосов, а также с помощью адаптивных систем внутриклеточной сигнализации, активация которых приводит к конформационным изменениям мембранных белковых комплексов. Исследование функционирования компонентов этой системы как в отдельности, так и при их т.н. перекрестном «cross-talk» взаимодействии представляет собой актуальную задачу. Знание устройства молекулярных систем регуляции ДЭ открывает широкие возможности по прогнозу и коррекции микроциркуляторных нарушений в современной клинической и в перспективе - гемореологической практике.

Одной из таких систем является аденилатциклазный (АЦ) сигнальный каскад. Центральным звеном является фермент аденилатциклаза, способный синтезировать цАМФ при активации ассоциированных рецепторов. В качестве последних выступают адренорецепторы, поэтому АЦ-каскад часто называют стрессовой сигнальной системой. цАМФ – универсальный вторичный мессенджер. Увеличение концентрации цАМФ внутри клетки запускает каскад ферментативных реакций: активация цАМФ-зависимых протеинкиназ А (ПКА) с последующим фосфорилированием белков цитоскелета. Последнее приводит к тому, что примембранные белковые комплексы, обеспечивающие целостность цитоскелета, распадаются, обеспечивая большую пластичность эритроцита и рост его деформируемости.

Цель данной работы — исследовать молекулярные аспекты работы АЦ-каскада в механизмах быстрой адаптивной регуляции ДЭ. Для этого необходимо оценить изменения ДЭ с помощью малоинвазивных методов при различной стимуляции компонентов каскада. В качестве основной экспериментальной методики была выбрана лазерная эктацитометрия. В данном методе измерения ДЭ происходят путем анализа изменения форм дифракционных картин, получаемых при освещении лазером (635 нм, 1.5 мВт) суспензии эритроцитов, находящихся в сдвиговом потоке [4]. Зависимость вытянутости дифракционной картины от напряжения сдвига (кривая деформируемости) несет информацию об интегральной ДЭ на уровне ансамбля большого числа клеток (десятки-сотни тысяч).

Было проведено исследование изменений ДЭ: (1) при неселективном возбуждении адренорецепторов с помощью адреналина; (2) при прямой активации аденилатциклазы с помощью форсколина; (3) при моделировании роста концентрации цАМФ внутри клетки с использованием его мембран-проникающего аналога (дibuтирил-цАМФ, db-cAMP). Эритроциты здоровых доноров инкубировались в ПБС растворах указанных субстанций при 37°C в течение 15 минут в широком диапазоне концентраций. Число измерений N для каждого образца не менее 10. В каждом из приведенных выше случаев наблюдался рост ДЭ,

причем эффект имел дозозависимый характер с выходом на насыщение. Это позволило для каждого стимулятора оценить полу-эффективные концентрации EC50 в зависимости от напряжения сдвига. Для адреналина рост ДЭ наблюдался при всех напряжениях сдвига, значения EC50 составили 6.5 ± 1.5 μM при высоких напряжениях сдвига (8 Па) и 1.6 ± 0.5 μM в области низких напряжений (1 Па). Положительный эффект db-cAMP на ДЭ проявился только при напряжениях сдвига, больших 3 Па, EC50 составила 0.1–0.3 μM . Действие форсколина наиболее сильно зависело от напряжения сдвига: в области малых сдвиговых напряжений EC50 достигала 56 ± 24 μM и уменьшалась до 1 μM и ниже в области высоких напряжений. Полученные значения EC50 были задействованы для оценки изменения текучести мембраны с помощью метода FRAP (fluorescence recovery after photobleaching) с использованием неспецифического липофильного красителя. Было получено, что наличие в среде инкубации стимуляторов АЦ-каскада (адреналин, db-cAMP, форсколин) достоверно ускоряло диффузию красителя, а следовательно, и повышало текучесть мембраны клетки, в сравнении с интактными эритроцитами.

Таким образом, было показано, что стимулирование АЦ-каскада приводит к достоверному увеличению ДЭ. Эффективность действия стимулятора оказалась различной при различных внешних механических воздействиях. По-видимому это связано с неселективностью действия стимуляторов: адреналин является лигандом как для альфа-, так и для бета-адренорецепторов, а форсколин способен стимулировать несколько биохимических процессов, в частности, транспорт глюкозы. db-cAMP показал наименее выраженную зависимость от напряжения сдвига, подтверждая тем самым микрореологический отклик по аденилатциклазному цАМФ-ассоциированному регуляторному пути. В целом, способность эритроцита распознавать внешние микромеханические стимулы и соответствующим образом осуществлять микрореологическую подстройку может являться механизмом адаптивной регуляции деформируемости, а аденилатциклазный сигнальный каскад играть роль ключевого регулирующего звена.

Работа была выполнена при поддержке РФФИ, грант № 18-32-00756.

Литература

1. А.В. Муравьев, И.А. Тихомирова, С.В. Булаева, В.А. Вдовин, А.А. Муравьев. Исследование роли отдельных реологических характеристик крови в изменении ее текучести и транспортного потенциала // Российский журнал биомеханики, 2012, Т. 16, № 3(57), С. 32–41.
2. Ф.И. Атауллаханов, Н.О. Корунова, И.С. Спиридонов, И.О. Пивоваров, Н.В. Калягина, М.В. Мартынов. Как регулируется объем эритроцита, или что могут и чего не могут математические модели в биологии // Биологические мембраны, 2009, Т. 26, № 3, С. 163–179.

3. А.В. Муравьев, И.А. Тихомирова, А.А. Ахапкина, С.В. Булаева, П.В. Михайлов, А.А. Муравьев. Микромеханические ответы эритроцитов человека на стимулирование мембранных рецепторов, ионных каналов и ферментов \ \ Российский журнал биомеханики, 2016, Т. 20, № 1, С. 28–36.
4. К. Ли, М. Киннунен, А.Е. Луговцов, А.В. Приезжев, А.В. Карменян. Оптические методы исследования динамики и деформации эритроцитов в условиях потока \ \ Автометрия, 2014, Т. 50, №5, С. 108–115.

МЕТОД ТЕРАГЕРЦОВОЙ ДИАГНОСТИКИ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЧЕЛОВЕКА

С.н.с. *Берловская Е.Е.*, д.б.н. (ИЛФ СО РАН, НТУ) *Черкасова О.П.*,
ст. преп. *Ожередов И.А.*, асп. психфак МГУ *Адамович Т.В.*,
психфак МГУ *Исайчев Е.С.*, доц. психфак МГУ *Исайчев С.А.*,
доц. *Макуренков А.М.*, д.т.н. (НИЦ РО) *Вараксин А.Н.*,
зав. лаб. (НИЦ РО) *Гатилов С.Б.*, (НИЦ РО) *Куренков Н.И.*,
зав. каф. психфак МГУ *Черноризов А.М.*, проф. *Шкуринов А.П.*

Введение. Традиционными методами оценки психоэмоционального состояния человека (ПЭС), являются контактные методы, в которых используются специальные датчики, накладываемые на поверхность тела человека. Развитие современных технологий диагностики ПЭС характеризуется переходом к дистанционным методам регистрации, позволяющим проводить оценку ПЭС в режиме реального времени [1]. Одним из перспективных направлений развития таких методов является анализ взаимосвязи объективного состояния человека с его собственным электромагнитным излучением в различных спектральных диапазонах или особенностями отражения слабого излучения от окружающих объектов. Хорошо известно, что тело человека является источником электромагнитного излучения, частотный диапазон которого находится в интервале от десятых долей Гц, захватывает радиочастотный, микроволновый и ИК диапазоны, и продолжается в видимую часть спектра [2]. Изменения состояния организма в результате внутренних процессов или воздействия извне неизбежно вызывают вариации интенсивности и характера собственного электромагнитного излучения, в том числе изменяется коэффициент отражения поверхности кожи, что является объективным диагностическим критерием [2]. Цель работы состояла в разработке нового подхода к терагерцовой (ТГц) диагностике ПЭС человека, основанного на анализе ТГц вклада в общий сигнал при одновременной регистрации ИК и ТГц излучений лица человека.