

Войнаровский В.В., Мартинович Г.Г.

Регуляция структурной стабильности эритроцитов с участием окисленных форм гемоглобина: математическая модель и эксперимент

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

Одним из важнейших механизмов повышения структурной стабильности мембран эритроцитов является их взаимодействие с основным белком клетки гемоглобином. Гемоглобин является регулятором гомеостаза эритроцитов и ключевым участником внутриклеточных окислительных процессов. Связывание гемоглобина с мембраной ре-

гулирует множество внутриклеточных процессов, таких как энергетический метаболизм, деформируемость мембраны, эриптоз и др. Связывание происходит с мембранными белками за счёт ковалентных и не ковалентных взаимодействий или с липидами мембраны в результате гидрофобного взаимодействия. Константы скорости образования и распада комплекса гемоглобин–мембрана зависят от состояния гемоглобина. Высокой константой связывания с компонентами мембраны характеризуется процесс взаимодействия метгемоглобина, образующегося при окислении оксигемоглобина. Это позволяет предположить его важную роль в регуляции стабильности мембраны в условиях окислительного стресса.

В работе построена математическая модель, описывающая ключевые этапы образования метгемоглобина и феррилгемоглобина при действии внеклеточного пероксида водорода и их связывания с мембраной. Результаты численного моделирования показывают, что обратимое связывание метгемоглобина с мембраной может являться адаптивным механизмом, направленным на стабилизацию липидного бислоя мембраны. С другой стороны, рост концентрации более окисленной формы гемоглобина – феррилгемоглобина, и его связывание с мембраной приводит к усилению патофизиологических процессов (перекисное окисление липидов, нарушение взаимодействия мембраны с цитоскелетом и др.), снижающих структурную стабильность клеток. На основе численного моделирования процессов взаимодействия метгемоглобина с мембраной эритроцитов установлена область концентраций внеклеточного пероксида водорода, при которых наблюдается активация адаптационных процессов. Результаты численного моделирования были подтверждены экспериментально.

В эксперименте использовали кровь здоровых доноров, полученную в ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий». Эритроциты выделяли и промывали путём центрифугирования при 1500 об/мин в фосфатно-солевом буфере (ФСБ). Кинетики гемолиза эритроцитов измеряли с использованием спектрофлуориметра Solar CM-2203 (SOLAR, Беларусь) путём регистрации оптической плотности клеточной суспензии ($3 \cdot 10^7$ клеток/мл) на длине волны 640 нм. Окислительный гемолиз инициировали путём добавления 0,2 мМ HOCl к суспензии эритроцитов в ФСБ при предварительном инкубировании с H_2O_2 в течение 5 и 15 минут при концентрациях 10–250 мкМ. Показано, что предварительное инкубирование клеток с пероксидом водорода в концентрациях 10–200 мкМ действительно позволяет снизить долю гемолизированных эритроцитов. Максимальный протекторный эффект, как и предсказывала

модель, зависит от времени инкубирования клеток с окислителем. При предварительном инкубировании клеток в течение 5 минут наблюдается стабилизирующий эффект, достигающий 30% от контрольных значений. При инкубировании клеток в течение 15 минут с пероксидом водорода наблюдается более выраженный стабилизирующий эффект. Доля неразрушенных эритроцитов достигает 60% для пероксида водорода в концентрации 175 мкМ, но при более высоких концентрациях проявляются обратная зависимость: с увеличением концентрации окислителя снижается доля неразрушенных эритроцитов, что, вероятно, обусловлено ростом количества комплексов феррилгемоглобин-мембрана. Увеличение количества комплексов феррилгемоглобина с мембраной может инициировать процессы перекисного окисления липидов и нарушить взаимодействие цитоскелета с мембраной, что приводит к снижению эффекта увеличения структурной стабильности при высоких концентрациях H_2O_2 .

Таким образом, в результате теоретических и экспериментальных исследований показано, что при действии пероксида водорода в концентрации 10–200 мкМ активируется адаптационный механизм эритроцитов, обусловленный ростом числа мембранно-связанного метгемоглобина, что повышает структурную стабильность мембраны при окислительном стрессе. Полученные данные позволяют расширить представления о механизмах защиты эритроцитов, построить прогнозы о защитных свойствах клеток при окислительном стрессе.