

УДК 616–74–611.018.51–615.27

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ОТВЕТА ЭРИТРОЦИТОВ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНЫМ ИЗЛУЧЕНИЕМ

РОМАНЕНКО НАТАЛЬЯ ВАЛЕРЬЕВНА

к.м.н., доцент кафедры

ТАРАСЕНКО СВЕТЛАНА ВИКТОРОВНА

д.м.н, профессор, заведующая кафедрой

КОРАБЛИНОВА АННА СЕРГЕЕВНА

студент

ЩЕТИНИНА ЕКАТЕРИНА ВЯЧЕСЛАВОВНА

клинический ординатор

Кафедра хирургической стоматологии Института стоматологии имени Е.В. Боровского ФГАОУ ВО Первый московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Аннотация: в настоящее время в клинической стоматологической практике при лечении и реабилитации пациентов с заболеваниями полости рта широко применяются лазерные технологии. Лазерное излучение используется при рассечении слизистой оболочки полости рта и в качестве источника энергии для фотобиомодуляции тканей. Воздействие низкоинтенсивным лазерным излучением на ткани активирует Ca^{2+} -зависимые реакции, повышающие энергоёмкость физиологических процессов в клетках. Статья посвящена особенностям биологического ответа клеток крови – эритроцитов на воздействие лазерным излучением.

Ключевые слова: эритроциты, лазерное излучение, деформируемость эритроцитов, агрегация эритроцитов, красные клетки крови.

PECULIARITIES OF THE BIOLOGICAL RESPONSE OF ERYTHROCYTES TO THE LASER RADIATION EXPOSURE

Romanenko Natalia Valerievna,
Tarasenko Svetlana Viktorovna,
Korablinova Anna Sergeevna,
Shchetinina Ekaterina Viacheslavovna

Abstract: currently, laser technologies are widely used in clinical dental practice in the treatment and rehabilitation of patients with diseases of the oral cavity. Laser radiation is used for dissection of the oral mucosa and as an energy source for tissue photobiomodulation. Exposure to low-intensity laser radiation on tissues activates Ca^{2+} -dependent reactions that increase the energy intensity of physiological processes in cells. The article is devoted to the peculiarities of the biological response of blood cells – erythrocytes to the impact of laser radiation.

Key words: erythrocytes, laser irradiation, RBC deformability, erythrocyte aggregation, red blood cells.

Эритроциты (red blood cells) – клетки крови, не имеющие ядра и митохондрий [1, с. 225; 2, с. 15]. Цитоплазма эритроцитов составляет объем в среднем 94 мкм^3 , богата белком гемоглобином, каждый тетрамер которого способен связывать четыре молекулы кислорода (O_2). Эритроциты образуются из гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге объемом около 2,4 млн клеток в секунду [1, с. 8–9]. Данный процесс контролируется гормоном эритропоэтином. Эритроцит составляют вода в объеме 60 %, гемоглобин в объеме 30–35 % и прочие вещества (негемоглобинные протеины, жиры, углеводы, минералы) в объеме 5–7 %. Масса гемоглобина не превышает трети веса эритроцита. Оболочка эритроцита представлена белками (49 %), жирами (43 %) и углеводами (8%) [1, с. 11].

Эритроциты имеют дисковидную двояковогнутую форму диаметром 7–10 мкм и толщиной 1,7–2,4 мкм [1, с. 42; 9, с. 382]. Толщина центральной части эритроцита составляет 1 мкм [1, с. 42]. Особенная форма способствует увеличению общей площади поверхности эритроцита на 20 % при сравнении со сферой такого же объема [3, с. 67]. Отсутствие ядра и двояковогнутая форма определяют их хорошую деформируемость и прохождение по узким капиллярам с последующим полным восстановлением первоначальной формы. Эти свойства и сохранность целостности являются основой полноценного выполнения ими специфических функций: транспорт O_2 в ткани, транспорт углекислого газа (CO_2) в легкие и буферизация ионов водорода (H^+).

Мембрана эритроцитов состоит из двойного слоя фосфолипидов и лежащей в основе двумерной сети молекул спектрина [4, с. 383]. Мультифункциональный белок спектрин образует трехмерную структуру и формирует подмембранный цитоскелет эритроцита. Комбинированные свойства двойного фосфолипидного слоя и белковой сети спектрина приводят к дискоцитарной морфологии здоровых эритроцитов и придают мембране ее эластичность и биореологические свойства [4, с. 383–384; 5, с. 93]. Поверхность эритроцитов обладает отрицательным зарядом, который препятствует их агрегации.

Просвет обменных капилляров в папиллярной десне может иметь размер менее 7 мкм. Для осуществления входа эритроцита в капилляр должны произойти какие-то определенные физиологические процессы... В мелких артериях, артериолах и венах движение клеток крови может существенно меняться при регуляторной констрикции и дилатации сосудов. В обменных капиллярах эти явления невозможны из-за отсутствия мышечных элементов в стенке сосудов данного типа. Поэтому в обменных капиллярах решающее значение для перфузии тканей имеет потоковая деформация эритроцитов [5, с. 93].

Эритроциты обладают уникальной способностью к повторяющимся большим деформациям, что позволяет им перемещаться по кровеносным сосудам диаметром до 2–3 мкм во время циркуляции. Эритроциты могут проходить микрососуды диаметром 2–2,7 мкм без повреждения и разрыва клеточной мембраны. В капиллярах, диаметр которых менее 5 мкм, эритроциты передвигаются один за другим, заполняя весь просвет сосуда.

По данным Timothy J. McMahon, при формировании механического стресса для воздействия на эндотелиальные клетки и клетки гладкой мускулатуры сосудов эритроциты экспортируют сосудорасширяющие медиаторы – группу S-нитрозотиола (SNO), синтезируемые на гемоглобине из оксида азота (NO) [6, с. 1].

В нормальных условиях деформируемость эритроцитов связана с эластическими свойствами клеточной мембраны. При высокой концентрации гемоглобина – $> 50 \text{ г/дл}$ – в деформируемости играет роль и вязкость внутреннего содержимого эритроцита [5, с. 93]. При снижении деформируемости эритроцитов нарушается локальная перфузия тканей.

По данным А.В. Муравьева и соавторов, способность эритроцитов к деформируемости зависит от возраста человека и от наличия или отсутствия у него сопутствующей патологии. Так, у спортсменов определена высокая степень деформируемости эритроцитов, в то время как у людей с метаболическими нарушениями и сосудистыми расстройствами выявлена низкая способность к деформируемости эритроцитов [5, с. 96–97].

Низкая способность к деформируемости эритроцитов наблюдается при нарушении функционирования внутриклеточных сигнальных путей, что сопровождается снижением мембранной эластичности. Данный процесс контролируется ферментом аденилатциклазой (АЦ). При стимулировании АЦ путем инкубирования эритроцитов с лабдановым дитерпеноидом – форсколином на 12% снижается вязкость

суспензий эритроцитов и на 33% увеличивается степень их деформируемости ($p > 0,05$) [5, с. 95].

Продолжительность функционирования эритроцитов составляет 100–120 суток. За этот период эритроцит совершает непрерывный путь длиной в 500000 км. С возрастом деформируемость эритроцитов претерпевает значительные изменения. Зрелые эритроциты в сравнении с молодыми обладают пониженной деформируемостью, что обусловлено ухудшением эластичности мембраны и увеличением внутренней вязкости цитоплазмы в результате роста внутриклеточного содержания гемоглобина и снижения концентрации АТФ [6, с. 3]. Для молодых эритроцитов средняя внутриклеточная концентрация гемоглобина составляет 317 г/л, а для зрелых – 375 г/л, что эквивалентно величинам внутренней вязкости – 9 сантипуазам (сПз) и 54 сПз соответственно. По данным Arman Namvar и коллег, пониженная деформируемость зрелых эритроцитов связана также и со снижением величины отношения поверхности эритроцита к его объему [7, с. 9].

Известно, что воспалительный процесс в слизистой оболочке полости рта и в тканях пародонта сопровождается нарушением микроциркуляции крови и гипоксией тканей [8, с. 68]. Эритроциты являются важнейшей составляющей микроциркуляции. Эффективность микроциркуляции определяется формой эритроцитов.

Эритроциты могут быть представлены разными формами... В норме в крови среди эритроцитов преобладают дискоциты, составляющие 98 % объема всех видов красных кровяных телец [1, с. 16]. Наиболее часто встречаемые эритроциты патологических форм это – эритроциты с гребнем, стоматоциты, эритроциты со значительным углублением с одной стороны диска и эхиноциты (эритроциты с отростками) [9, с. 21].

При гипоксии в крови происходит изменение соотношения нормальных эритроцитов и их патологических форм [9, с. 21]. Патологические формы эритроцитов теряют способность к деформируемости и прохождению через узкие капилляры, что вызывает выраженные нарушения микроциркуляции [1, с. 233]. Изменение соотношения нормальных эритроцитов и их патологических форм наблюдается также при всех видах острых и хронических заболеваний, при кровотечениях и отравлении организма экзо- и эндотоксинами [1, с. 154].

И.М. Байбековым и М.М. Ирхановым установлено, что даже при таком поверхностном патологическом состоянии, как протезный стоматит, изменяется соотношение дискоцитов и патологических форм эритроцитов (ПФЭ) в сторону последних [9, с. 21].

К изменениям формы эритроцитов приводят не только воздействия различных эндогенных и экзогенных факторов, а также и сдвиги таких констант как рН и осмотичность. Эти изменения могут проявляться в виде выростов на поверхности клеточной мембраны, что называют эхиноцитарной трансформацией, или в виде формирования инвагинаций на поверхности клетки, имеющих определение – стоматоцитарная трансформация [1, с. 13].

При начальных стадиях всех видов трансформации после прекращения действия агрессивных факторов возможно полное восстановление эритроцитов из их патологических форм в дискоциты.

Эритроциты – самые многочисленные форменные элементы крови человека – являются стандартным модельным объектом при изучении биологических эффектов лазерного излучения [10, с. 141].

При воздействии лазерным излучением происходит стимуляция процессов пролиферации и дифференцировки клеток эритроцитов [2, с. 22, 204] и нормализация микроциркуляции крови [2, с. 14, 38; 8, с. 69; 11, с. 12]. В большей степени данные физиологические явления наблюдаются при воздействии низкоинтенсивным лазерным излучением длиной волны инфракрасного спектра [1, с. 49–50].

По данным И.М. Байбекова и соавторов, особенности биологического ответа тканей на воздействие лазерным излучением зависят от длины волны и времени воздействия фотонной энергии [1, с. 224; 2, с. 36].

Согласно результатам исследований Gang–Yue Luo и коллег, воздействие низкоинтенсивным гелий–неоновым лазерным излучением длиной волны 632,8 нм при мощности 4,4 мВт/см² в течение 5 минут оказывает влияние на процесс гликолиза эритроцитов, что проявляется в снижении активности энергопотребляющего фермента – фосфофруктокиназы (ПФК) и повышении активности энергогенерирующего фермента – глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH), что, по мнению исследова-

телей, улучшает деформируемость эритроцитов [11, с. 2313].

Воздействие лазерным излучением инфракрасного диапазона на донорскую кровь достоверно замедляет процесс старения эритроцитов [1, с. 50].

При воздействии лазерным излучением длиной волны 337 нм отмечено повышение уровня гиперполяризации мембран эритроцитов, что реализуется через модификацию состояния липидов плазматических мембран эритроцитов и через изменения окислительно–восстановительных свойств гемоглобина [2, с. 35].

По данным Peter Kassák и коллег, воздействие энергией Nd:YAG–лазера длиной волны 532 нм при мощности 30 мW на эритроциты вызывает повышение активности Na^+/K^+ –аденозинтрифосфатазы – фермента из группы транспортных аденозинтрифосфатаз, представленного в плазматической мембране, что оказывает биостимулирующее действие на клетки [12, с. 191].

При внутривенном воздействии лазерным излучением происходит усиление активности медиаторов тканевого дыхания в эритроцитах – ферментов глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, пируваткиназы и лактатдегидрогеназы [2, с. 236]. Воздействие лазерным излучением длиной волны 635 нм нормализует показатели каталазы в эритроцитах [2, с. 162].

По данным Полудняковой Л.В. и коллег, воздействие высокоинтенсивным инфракрасным лазерным излучением на эритроциты приводит к усилению процессов липопероксидации мембран красных клеток крови и стимуляции активности клеточных ферментов антиоксидантной защиты. В эксперименте учеными проведено воздействие лазерным излучением длиной волны 1265 нм на взвесь эритроцитов крови крыс при непрерывном режиме и мощности 5,5 W в дозах: 7,8 Дж/см², 10,8 Дж/см², 39 Дж/см², 54 Дж/см², 78 Дж/см², 108 Дж/см², 156 Дж/см² и 216 Дж/см². Во всех случаях наблюдения установлено повышение уровня активности фермента – супероксиддисмутазы ($p < 0,05$), что свидетельствовало об активации антиоксидантной системы. Дозозависимым было повышение активности и других ферментов – продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида, каталазы и глутатион-S-трансферазы. При дозах 156 Дж/см² и 216 Дж/см² отмечено снижение уровня гемоглобина в надосадке суспензии. Данное явление авторы связывают с термической денатурацией гемоглобина при высоких дозах воздействия лазерным излучением [10, с. 141–142].

При воздействии низкоинтенсивным лазерным излучением увеличивается текучесть эритроцитов на 18%, снижается их агрегационная способность, уменьшается число патологических форм эритроцитов [1, с. 238], а также замедляется скорость оседания эритроцитов [13, с. 1199].

По данным Г.Б. Любомирского и Т.Л. Рединовой, воздействие лазерным излучением длиной волны 810 нм на область десны вызывает улучшение микроциркуляции [8, с. 69]. Данный факт установлен на основании показателей линейной систолической скорости кровотока, диагностируемой при проведении фотоплетизмографии.

Учеными Dan G. Siposan и Adalbert Lukacs проведено изучение влияния излучения гелий–неонового лазера длиной волны 632,8 нм на форменные элементы крови. Воздействие лазерным излучением на цельную кровь проводили в непрерывном режиме при мощности лазерного излучения 6 мW и плотности потока 180 мW/см². Исследователями установлено, что лазерное излучение вызывает формирование биостимулирующих эффектов в клеточной мембране эритроцитов. В основе данных явлений отмечен нерезонансный механизм [14, с. 96].

Воздействие лазерным излучением длиной волны 441 нм на кровь в течение 3–5 минут предупреждает трансформацию дискоцитов в стоматоциты [1, с. 224].

Под данным Ruixue Zhu и соавторов, воздействие лазерным излучением длиной волны 450 нм при плотности энергии ниже 9,5 Дж/см² вызывает повышение деформируемости эритроцитов человека и ослабление их межклеточного взаимодействия, что ведет к снижению агрегационной способности клеток [15, с. 11].

При воздействии низкоинтенсивным лазерным излучением на слизистую оболочку полости рта в области воспаления происходит нормализация процентного соотношения клеток эритроцитов: возрастает число дискоцитов с 59% до 88% и снижается доля ПФЭ с 41% до 12% ($p < 0,05$) [9, с. 22].

Улучшение формы эритроцитов является составной частью улучшения микроциркуляции. Нару-

шение микроциркуляции лежит в основе почти всех патологических процессов [9, с. 21]... Перспективным представляется более широкое внедрение в клиническую практику низкоинтенсивной лазерной терапии при лечении и реабилитации пациентов с различной патологией.

Список источников

1. Байбеков И.М., Мавлян-Ходжаев Р.Ш., Эрстекис А.Г., Москвин С.В. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях. – Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2008. – 256 с. ISBN 978-5-94789-319-9
2. Гейниц А.В., Москвин С.В., Ачилов А.А. Внутривенное лазерное облучение крови. – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2012. – 336 с. ISBN 978-5-94789-501-8
3. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты. // Успехи физиологических наук. – 2001. – Т. 32. – № 3. – С. 66 – 77
4. Diez-Silva M., Dao M., Han J., Lim Ch.-T., Suresh S. Shape and Biomechanical Characteristics of Human Red Blood Cells in Health and Disease. // Materials Research Society Bulletin. – 2010. – May. – Vol. 35. – № 5. – P. 382 – 388
5. Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Булаева С.В., Маймистова А.А., Михайлов П.В., Круглова Е.В. Анализ основных факторов, связанных с механизмами изменения деформируемости эритроцитов. // Ярославский педагогический вестник. Серия Естественные науки. – 2009. – Выпуск 1. – С. 93 – 97
6. McMahon T.J. Red Blood Cell Deformability, Vasoactive Mediators, and Adhesion. // Frontiers in Physiology. – 2019. – November. – Volume 10. – Article 1417. – P. 1 – 10. DOI: 10.3389/fphys.2019.01417
7. Namvar A., Blanch A.J., Dixon M.W., Carmo O.M.S., Liu B., Tiash S., Looker O., Andrew D., Chan L.-J., Tham W.-H., Lee P.V.S., Rajagopal V., Tilley L. Surface area-to-volume ratio, not cellular viscoelasticity, is the major determinant of red blood cell traversal through small channels. // Cellular Microbiology. – 2021. – Volume 23. – Issue 1. – P. 1 – 16. DOI: 10.1111/cmi.13270
8. Любомирский Г.Б., Рединова Т.Л. Микроциркуляторные изменения в тканях пародонта в динамике физиотерапевтического лечения у больных пародонтитом. // Пародонтология. – 2020. – Том 25. – № 1. – С. 63 – 70. DOI: 10.33925/1683-3759-2020-25-1-63-70
9. Байбеков И.М., Ирханов М.М. Эритроциты и микроциркуляция слизистой оболочки полости рта при использовании лазерного и светодиодного излучения. // Проблемы биологии и медицины. – 2019. – № 1 (107). – С. 20 – 24
10. Полуднякова Л.В., Арсланова Д.Р., Абакумова Т.В., Воронова О.С., Генинг Т.П. Влияние высокоинтенсивного непрерывного лазерного излучения на эритроциты крыс. // Вестник РУДН, серия Медицина. – 2012. – № 2. – С. 140 – 142
11. Luo G.-Y., Sun L., Wei E.-X., Tan X., Liu T. Ch.-Y. The effects of low-intensity He-Ne laser irradiation on erythrocyte metabolism. // Lasers in Medical Science. – 2015. – Volume 30. – P. 2313 – 2318. DOI: 10.1007/s10103-015-1806-6
12. Kassák P., Sikurová L., Kvasnicka P., Bryszewska M. The response of Na⁺/K⁺-ATPase of human erythrocytes to green laser light treatment // Physiological Research. – 2006. – Volume 55. – № 2. – P. 189 – 194. DOI: 10.33549/physiolres.930711
13. Al Musawi M., Jaafar M., Al-Gailani B., Ahmed N., Suhaimi F., Bakhsh M. Erythrocyte sedimentation rate of human blood exposed to low-level laser. // Lasers in Medical Science. – 2016. – Volume 31. – Issue 6. – P. 1195 – 1201. DOI: 10.1007/s10103-016-1972-1
14. Siposan D.G., Lukacs A. Relative Variation to Received Dose of Some Erythrocytic and Leukocytic Indices of Human Blood as a Result of Low-Level Laser Radiation: An *in Vitro* Study. // Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery. – 2001. – Apr. – Volume 19. – № 2. – P. 89 – 103. DOI: 10.1089/104454701750285412
15. Zhu R., Avsievich T., Su X., Bykov A., Popov A., Meglinski I. Hemorheological alterations of red blood cells induced by 450-nm and 520-nm laser radiation. // Journal of Photochemistry and Photobiology. B. Biology. – 2022. – May. – 230:112438. – P. 1 – 12. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2022.112438. PMID: 35405617