

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ СОСТОЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ И ПЛАЗМЫ КРОВИ ОБЕЗЬЯН ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ

С.Н. Мамаева¹

sargylana_mamaeva@mail.ru

С.М. Иванова²

svetlana_iv_07@mail.ru

В.В. Шутова³

vshutova@yandex.ru

Г.В. Максимов^{4,5}

gmaksimov@mail.ru

¹ СВФУ, Якутск, Российская Федерация

² ГНЦ — ИМБП РАН, Москва, Российская Федерация

³ МГУ им. Н.П. Огарёва, Саранск, Российская Федерация

⁴ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

⁵ МИСиС, Москва, Российская Федерация

Аннотация

Исследовано действие ионизирующего излучения на параметры крови обезьян (макак-резус, самцы). Животных облучали 1/10 суммарной дозы (50 сЗв) в течение 10 дней с перерывом в 2 дня (группа-1) или 1/2 суммарной дозы (50 сЗв) в течение 2 дней (группа-2). Установлено, что при первом облучении снижение гематокрита более выражено на 36-е сутки, а при втором — на 64-е сутки. Как правило, после первого и второго облучения наблюдается снижение содержания гемоглобина, что может свидетельствовать об изменении функции кроветворной системы. С использованием КР-спектроскопии исследованы молекулярные изменения каротиноидов плазмы крови и гема гемоглобина эритроцитов. Доказано, что после облучения в группе-2 микроокружение каротиноидов в липопротеиновых комплексах плазмы становится менее вязким, чем в группе-1. Это свидетельствует о том, что на 36-е сутки в плазме крови животных группы-2 запускаются процессы, меняющие характер белок-липидных взаимодействий в липопротеиновых комплексах плазмы, в которых локализованы каротиноиды. В определенные дни после облучения происходят достоверные изменения свойств гемоглобина эритроцитов в группе-1 и группе-2 по сравнению друг с другом. Вероятно, второе облучение оказывает иное воздействие на гемоглобин эритроцитов: облучение, проводимое для группы-1, оказывает более выраженное действие на гемоглобин эритроцитов,

Ключевые слова

Кровь, фракционное облучение, эритроцит, КР-спектроскопия, каротиноиды, плазма, гемоглобин

чем для группы-2. Различие сродства гемоглобина эритроцитов к кислороду, наблюдающееся для группы-1 и группы-2 после первого облучения, не коррелирует с изменениями гематокрита или содержанием гемоглобина эритроцитов в крови, а связаны с другими процессами, влияющими на конформацию гемоглобина эритроцитов. По мнению авторов работы, результаты исследования содержания или конформации молекул каротиноидов в липопротеиновых комплексах плазмы крови позволят разработать и внедрить не только методологию диагностики состояния организма в целом, но и терапию с использованием природных антиоксидантов

Поступила 28.03.2022

Принята 15.04.2022

© Автор(ы), 2022

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта № FSRG-2021-0014 «Разработка и внедрение новых комплексных подходов исследования актуальных задач медицины, сельского хозяйства, промышленности, в том числе обработки драгоценных камней, а также палеонтологии, биологии, вирусологии с применением методов спектроскопии, микроскопии и радиационных технологий» (для М.Г.В. и М.С.Н), а также Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология»

Введение. В настоящее время установлено, что в крови космонавтов после завершения длительного космического полета (КП) и модельных экспериментов (антиортостатическая гипокинезия — пребывание человека в замкнутом объеме с измененной газовой средой) наблюдаются изменения числа, морфологии и свойств гемоглобина (Гб) эритроцитов [1–5]. В ходе будущего длительного полета на Марс радиационный риск является самым высоким, поэтому для его преодоления рассматривают три основных аспекта: 1) физиологический (сохранение здоровья и жизни космонавтов); 2) эргонометрический (сохранение работоспособности экипажа); 3) технический (обеспечение бесперебойной работы приборов корабля). В целях исследования воздействия радиации на организм человека — одна из составных частей программы «Марс-500» для моделирования на Земле действия космической радиации — проведено несколько серий экспериментов на обезьянах [6]. Один из важных факторов космического полета — воздействие ионизирующего излучения (ИИ) на клетки белка и липидов крови, а также на окислительное фосфорилирование и синтез АТФ и генерацию свободных радикалов [6, 7].

Эритроциты — наиболее многочисленные форменные элементы крови, основное содержимое которых составляет Гб. Свойства эритроцитов

зависят от состояния кровеносной системы, активности их антиоксидантных систем крови, общего состояния органов, а также от уровня активности окружающих сосудов клеток тканей [8]. Нарушение нормальной работы организма приводит к изменению характеристик эритроцитов (объема, содержания и кислород (O_2)-связывающих свойств Гб, свойств плазматической мембраны и т. д.) [9]. Действие ИИ на кроветворную функцию костного мозга приводит к развитию анемии. В то же время изменение кислородтранспортной функции эритроцитов, связанное с изменениями, которые происходят на молекулярном уровне при действии ИИ, недостаточно изучено [6–9].

Цель работы — исследование фракционного воздействия ИИ на состояние эритроцитов теплокровного животного (содержание Гб и гематокрит, конформацию гема, характеризующую способность Гб связывать или сбрасывать O_2).

Методика исследования. *Объект исследования* — гепаринизированная (капля гепарина на 1 мл крови) кровь из вены обезьяны вида макака-резус (*Macaca mulatta*, самцы, масса 3,2...3,6 кг, возраст 2,5–3 года, около 40 особей). Проведено облучение обезьян (суммарная доза 50 сЗв) на установке УПГД-2М с источником излучения ^{137}Cs . Активность источника $7,4 \cdot 10^{12}$ Бк (200 Ки). Обезьян облучали тотально и равномерно в дозах, аналогичных ожидаемым дозам во время полета к Марсу космонавтов. Эксперименты проводили параллельно с экспериментом «Марс-500», в ходе которого выполнено несколько сеансов острого облучения по 50 сЗв (в установленном для космонавтов нормативе 15 сЗв). В эксперименте животных облучали 1/10 суммарной дозы в течение 10 дней с перерывом 2 дня (группа-1) или 1/2 суммарной дозы в течение 2 дней (группа-2). Далее исследовали кинетику восстановления параметров крови после 36...85 сут (группа-1) и 22...178 сут (группа-2). При выполнении исследования руководствовались «Правилами гуманного обращения с лабораторными животными» (Приложение № 8, «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 06.04.1973, № 1045-73).

Достоверными полагали различия показателей крови облученных и необлученных обезьян по сравнению с контрольной группой (фон) или с указанными группами по критерию Стьюдента [7]. Для оценки статистической значимости результатов использовали *t*-критерий. Результаты полагали достоверно различающимися при $p < 0,05$.

Общий объем эритроцитов (гематокрит). Гематокрит контролировали с использованием микрогематокритной центрифуги *Adams Readacrit* СТ-3400, осаждение эритроцитов проводили в течение 5 мин при 7200 мин^{-1} ($4750g$), значения гематокрита определяли по прилагаемой к прибору калибровочной линейке. Поскольку в работе не определяли число клеток, значение гематокрита коррелирует как с изменением числа клеток, так и с их объемом [1, 3].

Метод определения содержания гемоглобина в крови. Определение содержания Гб в крови проведено спектрофотометрическим методом [1, 3]. Эритроциты подвергали гемолизу, выделяя Гб, а затем по спектрам поглощения определяли концентрацию Гб. Эритроциты макак-резусов подвергали гемолизу путем 50-кратного разведения в дистиллированной воде. Полученный гемолизат разводили 50 раз 0,06%-ным раствором SDS (додецилсульфата натрия, *Panreac*) и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин, затем измеряли оптическую плотность на спектрофотометре *Specol-11 (ZEISS)* при длине волны 540 нм. Концентрацию Гб, г/л, оценивали по формуле

$$c = (E_p M_r) / (d \varepsilon),$$

где E — измеренное значение оптической плотности; p — кратность разбавления исходной крови в измеряемом образце; M_r — молекулярная масса мономера Гб; d — длина оптического пути ячейки; ε — коэффициент молярной экстинкции.

Метод определения содержания и конформации каротиноидов в плазме крови. Для оценки состояния молекул β -каротина в липидах или белках плазмы крови использовали КР-спектроскопию. Источник возбуждающего света — аргоновый лазер, генерирующий излучение длиной волны 473 нм, что близко к максимуму спектра поглощения β -каротина (450 нм). Луч лазера фокусировали на верхней части капилляра, заполненного плазмой крови макак-резусов. Мощность попадающего на образец лазерного излучения 18...20 мВт. Рассеянное излучение собиралось системой линз на фоточувствительную матрицу. Для записи спектров и оценки параметров КР-спектра использовали программу МОРС (Троицк, Россия). Время регистрации одного КР-спектра 60 с. При обработке КР-спектров проводили вычитание базовой линии с использованием программы, разработанной в лаборатории биофизики клетки Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, а также пакет программ *MATLAB 7.5* [10–13].

Метод определения доли комплексов оксигемоглобина и O_2 -связывающие свойства гемоглобина эритроцитов. С использованием КР-спектро-

скопии контролировали изменение конформации гема Гб, свидетельствующее о доле комплексов оксигемоглобина (о-Гб), а также O₂-связывающих свойств Гб эритроцитов крови обезьян после ИИ. Источник возбуждающего света — аргоновый лазер, генерирующий излучение длиной волны 473 нм и мощностью 17 мВт. Луч лазера фокусировали на верхней части капилляра, заполненного кровью макак-резусов. Рассеянное излучение собиралось системой линз на фоточувствительную матрицу. Для записи спектров и установления параметров использовали программу МОРС. Время регистрации одного спектра 100 с. При обработке КР-спектров проводили вычитание базовой линии, а также определение интенсивностей основных пиков КР-спектров с помощью оригинальной программы *Raman*, разработанной в лаборатории биофизики клетки Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова [14–17].

Результаты и их обсуждение. Гематокрит крови характеризует долю объема крови, занимаемую форменными элементами крови (главным образом эритроцитами), и коррелирует как с изменением числа клеток, так и с их объемом [1, 3]. Снижение гематокрита наблюдается при различных формах анемии, особенно после кровопотери, а увеличение происходит при эритроцитозах [6, 7]. Определение гематокрита проводят с использованием венозной или капиллярной крови с добавлением антикоагулянтов (в экспериментах — гепарин, 1 капля на 1 мл крови). Значения гематокрита макак-резусов до первого облучения (фон) и после на 36, 64, 85-е сут (группа-1) и после второго облучения на 22, 36, 64, 85, 178-е сут (группа-2) приведены на рис. 1, а.

Установлено, что кровь животных исследуемых групп отличается по объемному содержанию эритроцитов (или числу клеток). Так, без облучения в группе-1 значения гематокрита ниже, чем в контрольной группе, и на 36, 64 и 85-е сут после первого облучения этот эффект сохраняется. После второго облучения низкое значение гематокрита сохраняется на 22 и 64-е сут, в остальных случаях различия результатов экспериментов и контроля отсутствуют (см. рис. 1, а). Отметим, что с течением времени наблюдается снижение гематокрита во всех группах по сравнению с контрольной. Установлено, что по сравнению с 36-ю сут (после первого облучения) наблюдается снижение гематокрита на 64-е сут в группе-1, которое сохраняется на 85 и 178-е сут, в то время как для группы-2 такие изменения отсутствуют. Таким образом, при первом облучении уменьшение значения гематокрита более выражено на 36-е сут, а при втором — на 64-е сут.

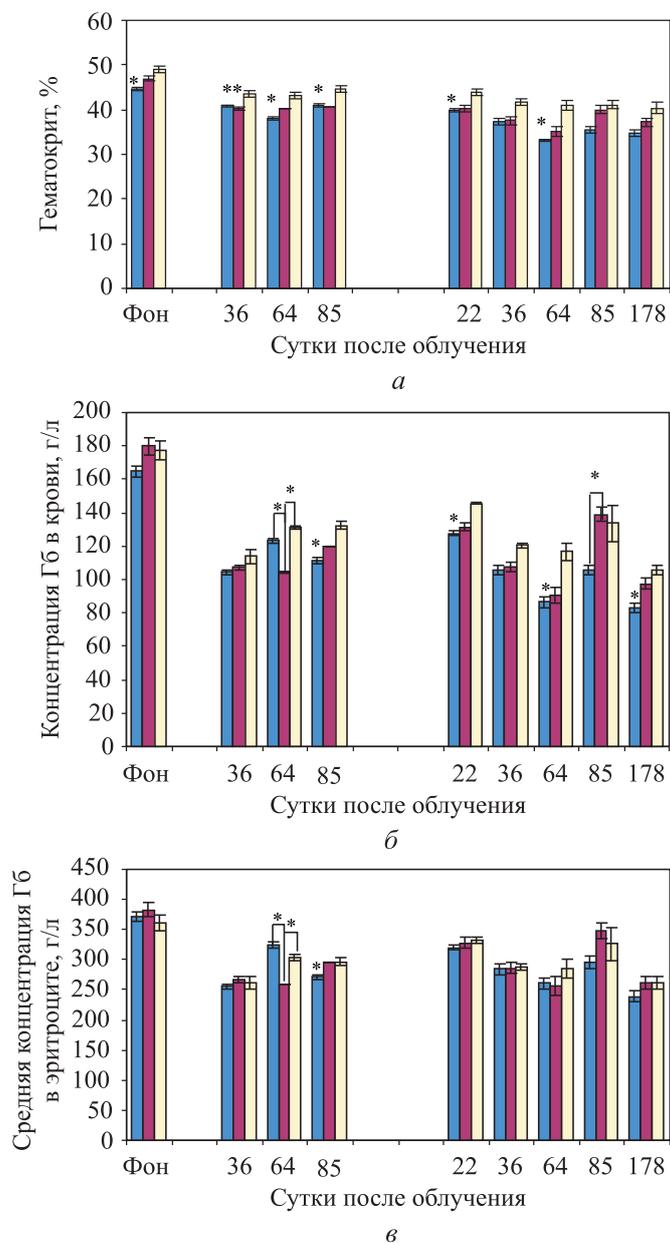


Рис. 1. Динамики значений гематокрита крови (а), концентрации Гб в крови (б), средней концентрации Гб в эритроците (в) макак-резусов до (фон) и после облучения:

■ — группа-1; ■ — группа-2; ■ — контрольная группа

Динамика концентрации Гб в крови макак-резусов до (фон) и после первого облучения на 36, 64, 85-е сут (эксперимент 1) и после второго облучения на 22, 36, 64, 85, 178-е сут (эксперимент 2) показана на рис. 1, б. Установлено, что исходное содержание Гб у группы животных достоверно

не отличается (фон). В эксперименте наблюдается тенденция к снижению содержания Гб в группе-1 по сравнению с контрольной группой. Действительно, на 36-е сут после ИИ и далее выявлено уменьшение содержания Гб в крови всех групп животных по сравнению с контрольной группой. Это согласуется с данными, полученными при исследовании изменений гематокрита. Вероятно, в процессе ИИ у животных развивается анемия как в группах, подвергнутых облучению, так и в контрольной группе, что может быть обусловлено, например, сезонными изменениями в организме животных или воздействием стресса, вызванного условиями эксперимента [18]. Снижение содержания Гб в группе-2 наблюдается на 64-е сут после первого облучения, но на 85-е сут содержание Гб в крови этих животных не меняется, хотя выявлено уменьшение содержания Гб в группе-1. В эксперименте 2 (после второго облучения) обнаружено уменьшение содержания Гб по сравнению с группой-1 (на 22, 64 и 178-е сут, тенденция к снижению на 85-е сут). Вероятно, облучение животного вызывает снижение синтеза Гб (или его разрушение) в крови макак-резусов.

Средняя концентрация Гб в эритроците, рассчитанная путем деления концентрации Гб в крови на гематокрит, отражает содержание Гб в эритроците и не зависит от клеточного объема. Определение средней концентрации Гб в эритроците важно для анализа кислородтранспортных свойств Гб и их изменений при ИИ. Снижение концентрации Гб в эритроцитах может свидетельствовать как об изменении функции кроветворной системы или о наличии в кровеносных сосудах эритроцитов, содержащих меньшее количество Гб, так и об увеличении объема эритроцитов, обусловленного изменениями активности ион-транспортирующих систем мембраны эритроцитов (рис. 1, в) [19]. Установлено, что на 36-е сут после облучения средняя концентрация Гб в эритроцитах во всех группах снижается по сравнению с фоновыми значениями: на 64-е сут после облучения наблюдается снижение в группе-2 по сравнению с контрольной, а на 85-е сут снижение в группе-1 (см. рис. 1, в). Вероятно, обнаруженные изменения свидетельствуют о нарушениях в процессе кроветворения, что может быть признаком анемии [19, 20].

В следующей серии экспериментов исследовали изменения конформации Гб и содержание антиоксиданта (каротиноида) в плазме крови после облучения животных. Характерный КР-спектр плазмы крови макак-резусов показан на рис. 2. Форма спектра и положение пиков соответствуют РКР-спектру каротиноидов, который характеризуется наличием полос с максимумами 1005, 1154 и 1523 см^{-1} . Первый пик связан с колебаниями связей C–CH₃ боковых метильных радикалов в молекуле каротиноидов,

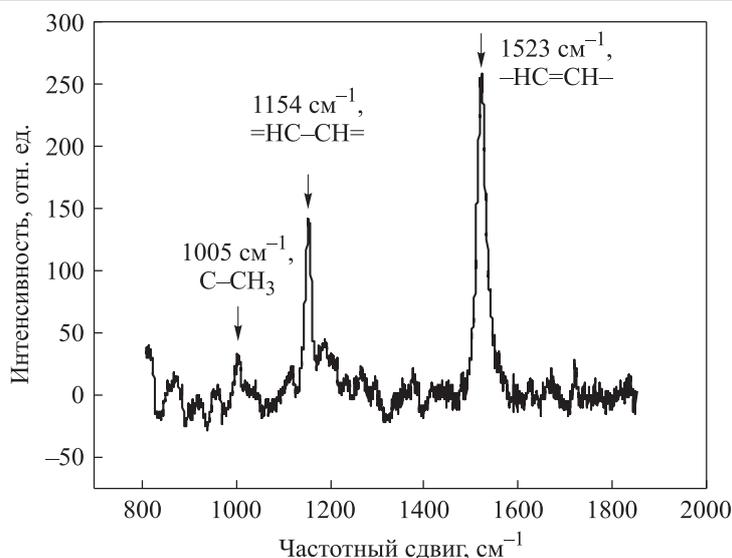


Рис. 2. КР-спектр каротиноидов плазмы крови макак-резусов

второй и третий — с валентными колебаниями одинарных ($=\text{CH}-\text{CH}=\text{}$) и двойных ($-\text{HC}=\text{CH}-$) связей в углеводородной цепи каротиноидов. Полоса 1523 см^{-1} представляет собой важную характеристическую линию: частота колебаний двойных связей и положение соответствующего пика в КР-спектре являются точной мерой жесткости связи, поэтому используются для оценки степени сопряженности π -электронной системы сопряженных двойных связей. Кроме того, положение этого пика зависит от длины молекулы каротиноида (числа атомов С) и смещается в сторону больших значений частоты при уменьшении числа атомов С в цепи. Агрегация каротиноидов, в частности β -каротина, влияющая на положение максимума поглощения, не затрагивает положения полос КР-спектра. При *цис*конформации двойных связей β -каротина пик 1154 см^{-1} имеет два ярко выраженных плеча с положениями $1190\dots 1193\text{ см}^{-1}$ и 1210 см^{-1} . При переходе в *транс*конформацию хотя бы по одной двойной связи плечо 1210 см^{-1} сдвигается в низкочастотную область и практически сливается с плечом 1193 см^{-1} , в некоторых случаях оно полностью исчезает. Кроме того, при *цис*транспереходе увеличивается полуширина полосы 1523 см^{-1} .

В гидрофобном окружении (липопротеиновые комплексы, мембраны, липосомы и т. д.) молекулы каротиноидов меняют конформацию при изменении упорядоченности окружающих их фосфолипидных «хвостов», что влияет на КР-спектры каротиноидов. Было доказано в [21], что отношение интенсивностей полос I_{1523} / I_{1155} зависит от вязкости гидро-

фобной области липидов мембраны, мембранного потенциала, числа мембраносвязанных ионов, что обусловлено упорядоченностью фосфолипидных «хвостов» в окружении молекул β -каротина и может использоваться для оценки микровязкости липопротеиновых комплексов плазмы крови.

Установлено, что конформация каротиноидов плазмы крови обезьян изменяется на 36-е сут после первого облучения (рис. 3). Полученные изменения свидетельствуют о том, что в группе-2 микроокружение каротиноидов в липопротеиновых комплексах плазмы становится менее вязким, чем в группе-1. В соответствии с результатами на 36-е сут в плазме крови животных группы-2 инициируются процессы, меняющие характер белок-липидных взаимодействий в липопротеиновых комплексах или белках плазмы крови (альбумин), в которых находятся каротиноиды. Во все последующие дни, а также после второго облучения изменений вязкости микроокружения каротиноидов не выявлено.

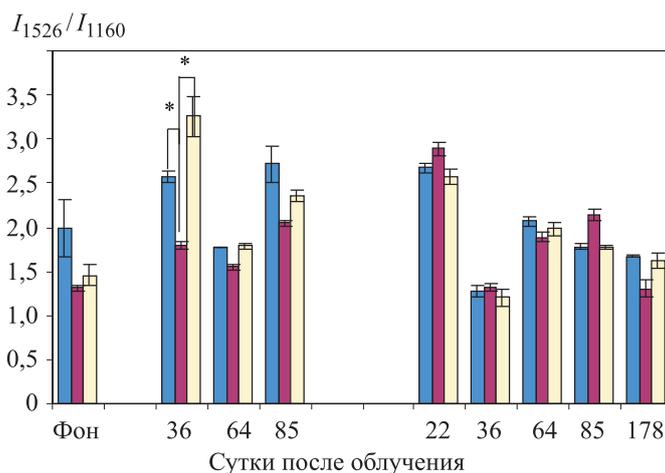


Рис. 3. Динамика параметров КР-спектра каротиноидов плазмы крови обезьян до (фон) и после облучения:

■ — группа-1; ■ — группа-2; ■ — контрольная группа

Способность эритроцитов переносить кислород, регистрируя изменения конформации гема, которые свидетельствуют о доле комплексов о-Гб и O_2 -связывающих свойствах Гб у обезьян при ИИ, исследовали с использованием КР-спектроскопии (рис. 4). По соотношению интенсивностей пиков оценивали долю о-Гб и O_2 -связывающий Гб [22]: доля комплексов о-Гб $I_{1375} / (I_{1355} + I_{1375})$; способность Гб связывать O_2 I_{1355} / I_{1564} ; способность Гб выделять O_2 I_{1375} / I_{1588} ; средство Гб к O_2 $(I_{1355} / I_{1564}) / (I_{1375} / I_{1588})$.

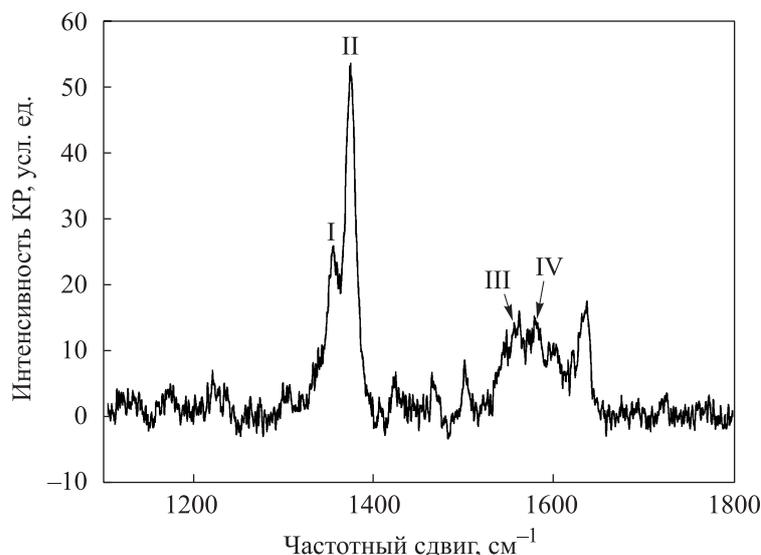


Рис. 4. КР-спектр крови обезьян макак-резусов:

пики, соответствующие колебаниям полуколец пирролов в гемопорфирине дезоксигемоглобина (д-Гб) и о-Гб: I — 1355 см^{-1} ; II — 1375 см^{-1} ; пик, связанный с колебанием метиновых мостиков в гемопорфирине д-Гб, а также с низким сродством Гб к O_2 : III — $1560\dots1564\text{ см}^{-1}$; пик, связанный с колебанием метиновых мостиков в о-Гб и Гб с высоким сродством к O_2 : IV — $1580\dots1588\text{ см}^{-1}$

Гистограмма изменения доли комплексов о-Гб в эритроцитах обезьян при ИИ представлена на рис. 5, а. Установлено, что до начала экспериментов (фон) все конформации гема в Гб трех групп такие, при которых доля комплексов о-Гб одинакова. Однако в процессе первого и после второго облучения происходит изменение доли комплексов о-Гб в обеих группах. При исходном облучении доля комплексов о-Гб на 36-е сут уменьшается в группе-1, а на 64-е сут увеличивается. Отметим, что у группы-1 на 64-е сут уменьшается гематокрит и, вероятно, увеличение содержания о-Гб может рассматриваться как адаптация к уменьшению числа эритроцитов в крови после ИИ. На 85-е сут после первого облучения доля комплексов о-Гб в группе-2 ниже, чем в группе-1, но не отличается от контрольной группы. После второго облучения достоверное изменение доли комплексов о-Гб по сравнению с контролем выявлено только для группы-2 (36 сут). В целом после двух облучений существенных изменений доли комплексов о-Гб в Гб не обнаружено. Кроме того, не выявлено корреляций в изменении доли комплексов о-Гб с изменениями гематокрита или содержания Гб в крови и эритроцитах. Отметим, что в течение эксперимента у контрольной группы наблюдаются изменения доли комплексов о-Гб, что может быть отчасти обусловлено сезонным состоянием животных.

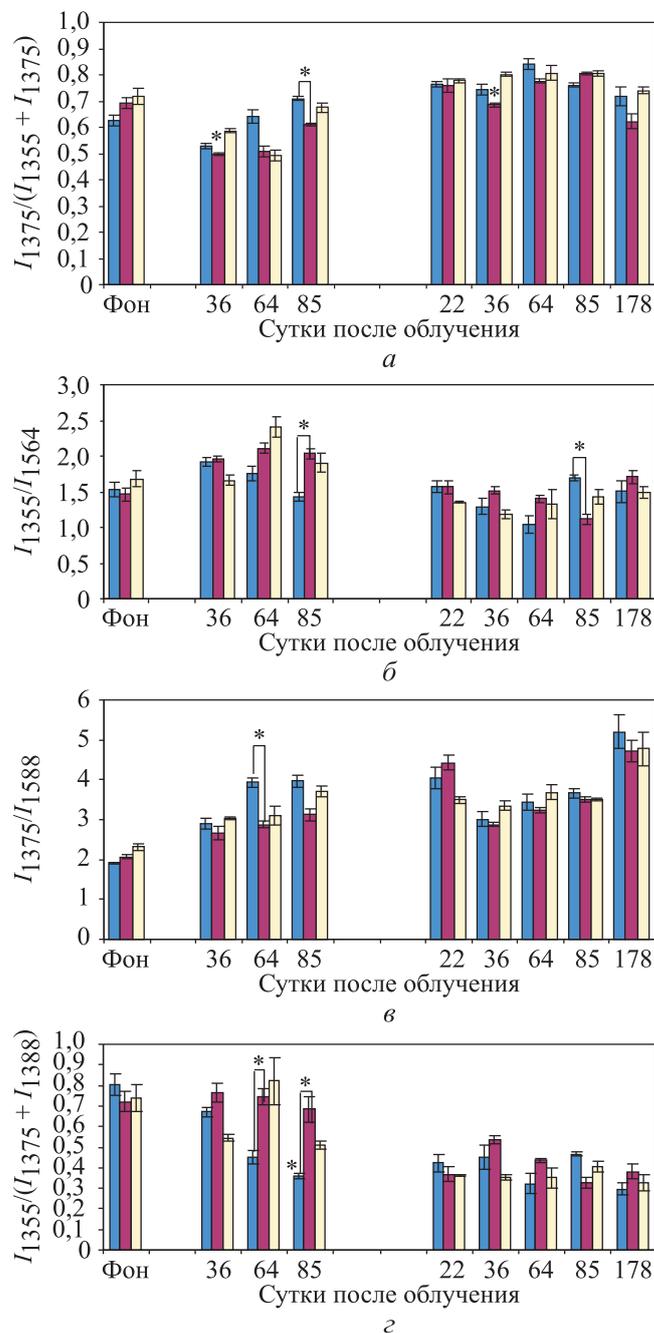


Рис. 5. Динамика доли комплексов о-Гб у обезьян (а), конформации гема, характеризующей способность Гб связывать O₂ (б), конформации гема, характеризующей способность Гб сбрасывать O₂ (в), конформации гема, характеризующей сродство Гб к O₂ (г), до (фон) и после облучения:
■ — группа-1; ■ — группа-2; ■ — контрольная группа

В следующей серии экспериментов контролировали изменения способности Гб связывать и десорбировать кислород после ИИ. Гистограмма, характеризующая изменения конформации гема Гб при изменении способности связывать O_2 , приведена на рис. 5, б. В эксперименте не обнаружены изменения способности Гб связывать O_2 (сравнение указанного параметра в крови животных группы-1 и группы-2 с контрольной группой). Однако при первом и втором облучении животных на 85-е сут наблюдаются достоверные отличия способностей Гб связывать O_2 в крови животных группы-1 и группы-2. Установлено, что при облучении в группе-1 способность Гб связывать O_2 ниже, чем в группе-2, а при втором — в группе-2 способность Гб связывать O_2 выше, чем в группе-1.

Отметим, что исследование способности гема Гб сбрасывать O_2 также не выявило отличий между группой-1 и группой-2 по сравнению с контрольной (рис. 5, в). Однако после облучения на 64-е сут способность Гб сбрасывать O_2 у группы-2 меньше, чем у группы-1.

Как уже было отмечено, обнаруженные изменения способности Гб связывать и сбрасывать O_2 отражают изменения конформации д-Гб и о-Гб, что и приводит к изменению O_2 -связывающих свойств Гб. В случае когда между группами нет достоверных отличий по этим параметрам, изменение сродства Гб к O_2 (определяемое как отношение способности Гб связывать и выделять O_2) более выражено на 64-е и 85-е сут после первого облучения животных (рис. 5, г). Действительно, на 64-е и 85-е сут после облучения у обезьян группы-1 сродство Гб к O_2 существенно ниже, чем у обезьян группы-2. Отметим, что различия сродства Гб к O_2 между группой-1 и группой-2 не коррелируют с изменениями содержания Гб и гематокрита в этих группах. Вероятно, отличие сродства Гб к O_2 , наблюдающееся для группы-1 и группы-2 после первого облучения, не является адаптационным к изменению гематокрита или содержания Гб в крови, а отражают другие процессы, влияющие на конформацию Гб. Возможно, это синтез другой формы Гб или изменение ионного состава плазмы крови и цитоплазмы эритроцита, а также концентрации CO_2 и NO в плазме крови — молекул, которые являются модуляторами для сродства Гб к O_2 [22].

Заключение. Исследованы последствия радиационного воздействия на состояние эритроцитов теплокровного животного (содержание Гб и гематокрит; конформация гема, характеризующая способность Гб связывать или сбрасывать O_2). Доказано, что при первом облучении сниже-

ние гематокрита более выражено на 36-е сут, а при втором — на 64-е сут, также наблюдается снижение содержания Гб. Это может свидетельствовать как об изменении функции кроветворной системы, так и об увеличении объема эритроцитов, обусловленных изменениями активности ион-транспортирующих систем мембраны эритроцитов (см. рис. 2).

Впервые с использованием КР-спектроскопии исследованы молекулярные изменения каротиноидов плазмы крови и гема Гб эритроцитов. Доказано, что после ИИ в группе-2 микроокружение каротиноидов в липопротеиновых или белковых комплексах плазмы становится менее гидрофобным, чем в группе-1. Такой результат свидетельствует о том, что на 36-е сут в плазме крови животных группы-2 запускаются процессы, меняющие характер белок-липидных взаимодействий в липопротеиновых или белковых комплексах плазмы, в которых локализованы каротиноиды.

Отметим, что в определенные дни после первого облучения происходят достоверные изменения свойств Гб в группе-1 и группе-2 по сравнению друг с другом. Вероятно, что второе облучение по-разному оказывает воздействие на Гб. Облучение, проводимое для группы-1, оказывает более выраженное действие на Гб, чем для группы-2. Установлено, что у группы-1 на 64-е сут после ИИ снижается гематокрит. В связи с этим увеличение доли комплексов о-Гб может рассматриваться как адаптация уменьшения числа эритроцитов. Вероятно, различие сродства Гб к O_2 , наблюдающееся для группы-1 и группы-2 после первого облучения, не является адаптационным к изменениям, выявленным в гематокрите или содержании Гб в крови, а отражает другие процессы, влияющие на конформацию Гб. Возможно, это синтез другой формы Гб или изменение ионного состава плазмы крови и цитоплазмы эритроцита, а также изменение концентраций CO_2 и NO в плазме крови.

Полученные результаты свидетельствуют о существенных изменениях крови (эритроциты, каротиноиды плазмы крови) млекопитающих позвоночных животных при различных режимах воздействия ИИ. Исследование содержания или конформации молекул каротиноидов в липопротеиновых комплексах плазмы крови позволит разработать и внедрить не только методологию диагностики состояния организма в целом, но и терапию с использованием природных антиоксидантов.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Grigoriev A.I., Maksimov G.V., Morukov B.V., et al. Investigation of erythrocyte shape, plasma membrane fluidity and conformation of haemoglobin haemoporphyrin

under the influence of long-term space. *J. Gravit. Physiol.*, 2004, vol. 11, no. 2, pp. 79–80.

[2] Ivanova S.M., Brazhe N.A., Luneva O.G., et al. Physical-chemical properties of plasma membrane and function of erythrocytes of cosmonauts after long-term space flight. *Acta Astronaut.*, 2011, vol. 68, iss. 9-10, pp. 1517–1522.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2010.06.046>

[3] Браже Н.А., Байжуманов А.А., Паршина Е.Ю. и др. Исследование состояния антиоксидантной системы крови и кислородтранспортных свойств эритроцитов человека в условиях 105-суточной изоляции. *Авиакосмическая и экологическая медицина*, 2011, т. 45, № 1, с. 40–45.

[4] Ivanova S.M., Morukov B.V., Maksimov G.V., et al. Morphological and functional features of the blood in humans during a nine-day stay in an oxygen environment with various oxygen contents. *Hum Physiol.*, 2012, vol. 38, no. 7, pp. 786–787.

DOI: <https://doi.org/10.1134/S0362119712070092>

[5] Иванова С.М., Лабеевская О.И., Анисимов Н. и др. Морфофункциональные свойства эритроцитов и эффективность переноса кислорода гемоглобином человека в условиях 21-суточной «сухой» иммерсии. *Авиакосмическая и экологическая медицина*, 2019, т. 53, № 6, с. 33–37.

DOI: <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2019-53-6-33-37>

[6] Ремизов А.Н. Медицинская и биологическая физика. М., Высш. шк., 1999.

[7] Кудряшов Ю.Б., Беренфельд Б.С. Радиационная биофизика. М., Изд-во МГУ, 1979.

[8] Luneva O.G., Sidorenko S.V., Maksimov G.V., et al. Erythrocytes as regulators of blood vessel tone. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. A*, 2015, vol. A9, no. 3, pp. 161–171.

DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990747815040078>

[9] Шиффман Ф.Д. Патофизиология крови. М., СПб., Бином, Невский Диалект, 2000.

[10] Allakhverdiev E.S., Khabatova V.V., Kossalbayev B.D., et al. Raman spectroscopy and its modifications applied to biological and medical research. *Cells*, 2022, vol. 11, iss. 3, art. 386. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11030386>

[11] Nikelshparg E.I., Grivennikova V.G., Baizhumanov A.A., et al. Probing lipids in biological membranes using SERS. *Mendeleev Commun.*, 2019, vol. 29, iss. 6, pp. 635–637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2019.11.009>

[12] Osterrothová K., Culka A., Němečková K., et al. Analyzing carotenoids of snow algae by Raman microspectroscopy and high-performance liquid chromatography. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2019, vol. 212, pp. 262–271.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.01.013>

[13] Jehlička J., Edwards H.G.M., Osterrothová K., et al. Potential and limits of Raman spectroscopy for carotenoid detection in microorganisms: implications for astrobiology. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, 2014, vol. 372, iss. 2030, art. 20140199.

DOI: <https://doi.org/10.1098/rsta.2014.0199>

- [14] Sidorenko S.V., Ziganshin R.H., Luneva O.G., et al. Proteomics-based identification of hypoxia-sensitive membrane-bound proteins in rat erythrocytes. *J. Proteomics*, 2018, vol. 184, pp. 25–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.06.008>
- [15] Slatinskaya O.V., Luneva O.G., Deev L.I., et al. Conformational changes that occur in heme and globin upon temperature variations and normobaric hypoxia. *Biophysics*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 213–221. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006350920020220>
- [16] Parshina E.Yu., Yusipovich A.I., Brazhe A.R., et al. Heat damage of cytoskeleton in erythrocytes increases membrane roughness and cell rigidity. *J. Biol. Phys.*, 2019, vol. 45, no. 4, pp. 367–377. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10867-019-09533-5>
- [17] Eggersdorfer M., Wyss A. Carotenoids in human nutrition and health. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2018, vol. 652, pp. 18–26. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.06.001>
- [18] Орлов С.Н. Котранспортеры катионов и хлора: регуляция, физиологическое значение и роль в патогенезе артериальной гипертензии. *Успехи биологической химии*, 2014, т. 54, с. 267–298.
- [19] Atkins C.G., Buckley K., Blades M.W., et al. Raman spectroscopy of blood and blood components. *Appl. Spectrosc.*, 2017, vol. 71, iss. 5, pp. 767–793. DOI: <https://doi.org/10.1177/0003702816686593>
- [20] Othmane A., Bitbol M., Snabre P., et al. Influence of altered phospholipid composition of the membrane outer layer on red blood cell aggregation: relation to shape changes and glycocalyx structure. *Eur. Biophys. J.*, 1990, vol. 18, no. 2, pp. 93–99. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00183268>
- [21] Maksimov G.V., Slatinskaya O.V., Tkhор E.S., et al. The role of erythrocyte receptors in regulation of the conformation and distribution of hemoglobin. *Biophysics*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 57–61. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006350919010123>
- [22] Sidorenko S.V., Luneva O.G., Novozhilova T.S., et al. Hemolysis and ATP release from human and rat erythrocytes under conditions of hypoxia: a comparative study. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. A*, 2018, vol. 12, no. 2, pp. 114–120. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990747818020125>

Мамаева Саргылана Николаевна — канд. физ.-мат. наук, заведующая кафедрой «Общая и экспериментальная физика» Физико-технического института СВФУ (Российская Федерация, 677007, Якутск, Кулаковского ул., д. 48).

Иванова Светлана Мансуровна — канд. биол. наук, старший научный сотрудник ГНЦ — ИМБП РАН (Российская Федерация, 123007, Москва, Хорошевское ш., д. 76А, стр. 10).

Шутова Виталина Викторовна — канд. биол. наук, доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биоинженерии МГУ им. Н.П. Огарёва (Российская Федерация, 430005, Саранск, Большевицкая ул., д. 68).

Максимов Георгий Владимирович — д-р биол. наук, профессор кафедры «Биофизика» Биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (Российская Федерация, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1); профессор кафедры «Физическое материаловедение» МИСиС (Российская Федерация, 119049, Москва, Ленинский пр-т, д. 4).

Просьба ссылаться на эту статью следующим образом:

Мамаева С.Н., Иванова С.М., Шутова В.В. и др. Исследование изменений состояния эритроцитов и плазмы крови обезьян при воздействии ионизирующего излучения. *Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Естественные науки*, 2022, № 5 (104), с. 86–104. DOI: <https://doi.org/10.18698/1812-3368-2022-5-86-104>

**STUDY OF ALTERATIONS IN THE ERYTHROCYTES
AND PLASMA STATE IN MONKEYS' BLOOD EXPOSED
TO IONIZING RADIATION**

S.N. Mamaeva¹

sargylana_mamaeva@mail.ru

S.M. Ivanova²

svetlana_iv_07@mail.ru

V.V. Shutova³

vshutova@yandex.ru

G.V. Maksimov^{4,5}

gmaksimov@mail.ru

¹North-Eastern Federal University, Yakutsk, Russian Federation

²Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

³National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

⁴Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

⁵MISiS, Moscow, Russian Federation

Abstract

The effect of ionizing radiation on the blood parameters of monkeys (rhesus monkeys, male species) was studied. Animals were exposed to irradiation with 1/10 of the total dose (50 cSv) for 10 days with an interval of 2 days (Group-1) or 1/2 of the total dose (50 cSv) for 2 days (Group-2). It was found that decrease in the hematocrit was more pronounced on the 36th day during the first irradiation, and on the 64th day after the second one. As a rule, a decrease in hemoglobin content was observed after the first and second irradiations, which could indicate an alteration in the hematopoietic system function. Molecular alterations in blood plasma carotenoids and erythrocyte hemoglobin heme were studied using the Raman

Keywords

Blood, fractional irradiation, erythrocyte, Raman spectroscopy, carotenoids, plasma, hemoglobin

spectroscopy. It was proven that after irradiation the microenvironment of carotenoids in plasma lipoprotein complexes in Group-2 became less viscous, than in Group-1. This indicated that on the 36th day processes were triggered in blood plasma of the Group-2 animals that changed the nature of protein-lipid interactions in plasma lipoprotein complexes, where carotenoids were localized. On certain days after irradiation, reliable alterations were registered in the erythrocytes hemoglobin properties in Group-1 and Group-2 compared to each other. It is likely that the second irradiation had a different effect on the erythrocyte hemoglobin: Group-1 irradiation had a more pronounced effect on the erythrocyte hemoglobin than in Group-2. Difference in the erythrocyte hemoglobin affinity to oxygen observed in Group-1 and Group-2 after the first irradiation was not correlating with alterations in the hematocrit or erythrocyte hemoglobin content in blood, but was associated with other processes that affected the erythrocyte hemoglobin conformation. According to the authors of the work, results of studying the carotenoid molecules content or conformation in the blood plasma lipoprotein complexes would allow developing and introducing not only a methodology for diagnosing the state of an organism as a whole, but also the therapy using the natural antioxidants

Received 28.03.2022

Accepted 15.04.2022

© Author(s), 2022

The work was carried out with financial support of Project No. FSRG-2021-0014 “Development and introduction of new integrated approaches to studying the urgent problems in medicine, agriculture, industry, including precious stones processing, as well as in paleontology, biology and virology using spectroscopy, microscopy and radiation technologies” (for M.G.V. and M.S.N.), as well as of the Interdisciplinary Scientific and Educational School of the Moscow University “Molecular technologies of living systems and synthetic biology”

REFERENCES

- [1] Grigoriev A.I., Maksimov G.V., Morukov B.V., et al. Investigation of erythrocyte shape, plasma membrane fluidity and conformation of haemoglobin haemoporphyrin under the influence of long-term space. *J. Gravit. Physiol.*, 2004, vol. 11, no. 2, pp. 79–80.
- [2] Ivanova S.M., Brazhe N.A., Luneva O.G., et al. Physical-chemical properties of plasma membrane and function of erythrocytes of cosmonauts after long-term space flight. *Acta Astronaut.*, 2011, vol. 68, iss. 9-10, pp. 1517–1522.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2010.06.046>

- [3] Brazhe N.A., Bayzhumanov A.A., Parshina E.Yu., et al. Studies of the blood antioxidant system and oxygen-transporting properties of human erythrocytes during 105-day isolation. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina* [Aerospace and Environmental Medicine], 2011, vol. 45, no. 1, pp. 40–45 (in Russ.).
- [4] Ivanova S.M., Morukov B.V., Maksimov G.V., et al. Morphological and functional features of the blood in humans during a nine-day stay in an oxygen environment with various oxygen contents. *Hum Physiol.*, 2012, vol. 38, no. 7, pp. 786–787.
DOI: <https://doi.org/10.1134/S0362119712070092>
- [5] Ivanova S.M., Labetskaya O.I., Anisimov N., et al. Morphofunctional properties of erythrocytes and effectiveness of oxygen transfer by hemoglobin in human subjects during 21-day dry immersion. *Aviakosmicheskaya i ekologicheskaya meditsina* [Aerospace and Environmental Medicine], 2019, vol. 53, no. 6, pp. 33–37 (in Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.21687/0233-528X-2019-53-6-33-37>
- [6] Remizov A.N. *Meditsinskaya i biologicheskaya fizika* [Medical and biological physics]. Moscow, Vysshaya shkola Publ., 1999.
- [7] Kudryashov Yu.B., Berenfeld B.S. *Radiatsionnaya biofizika* [Radiation biophysics]. Moscow, MSU Publ., 1979.
- [8] Luneva O.G., Sidorenko S.V., Maksimov G.V., et al. Erythrocytes as regulators of blood vessel tone. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. A*, 2015, vol. A9, no. 3, pp. 161–171.
DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990747815040078>
- [9] Schiffman F.J. *Hematologic pathophysiology*. Lippincott Williams & Wilkins, 1998.
- [10] Allakhverdiev E.S., Khabatova V.V., Kossalbayev B.D., et al. Raman spectroscopy and its modifications applied to biological and medical research. *Cells*, 2022, vol. 11, iss. 3, art. 386. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11030386>
- [11] Nikelshparg E.I., Grivennikova V.G., Baizhumanov A.A., et al. Probing lipids in biological membranes using SERS. *Mendeleev Commun.*, 2019, vol. 29, no. 6, pp. 635–637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2019.11.009>
- [12] Osterrothová K., Culka A., Němečková K., et al. Analyzing carotenoids of snow algae by Raman microspectroscopy and high-performance liquid chromatography. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2019, vol. 212, pp. 262–271.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.01.013>
- [13] Jehlička J., Edwards H.G.M., Osterrothová K., et al. Potential and limits of Raman spectroscopy for carotenoid detection in microorganisms: implications for astrobiology. *Philos. Trans. A. Math. Phys. Eng. Sci.*, 2014, vol. 372, iss. 2030, art. 20140199.
DOI: <https://doi.org/10.1098/rsta.2014.0199>
- [14] Sidorenko S.V., Ziganshin R.H., Luneva O.G., et al. Proteomics-based identification of hypoxia-sensitive membrane-bound proteins in rat erythrocytes. *J. Proteomics*, 2018, vol. 184, pp. 25–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.06.008>
- [15] Slatinskaya O.V., Luneva O.G., Deev L.I., et al. Conformational changes that occur in heme and globin upon temperature variations and normobaric hypoxia. *Biophysics*, 2020, vol. 65, no. 2, pp. 213–221. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006350920020220>

- [16] Parshina E.Yu., Yusipovich A.I., Brazhe A.R., et al. Heat damage of cytoskeleton in erythrocytes increases membrane roughness and cell rigidity. *J. Biol. Phys.*, 2019, vol. 45, no. 4, pp. 367–377. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10867-019-09533-5>
- [17] Eggersdorfer M., Wyss A. Carotenoids in human nutrition and health. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2018, vol. 652, pp. 18–26. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.06.001>
- [18] Orlov S.N. Cotransporters of cations and chlorine: regulation, physiological significance and a role in hyperpiesis pathomechanism. *Uspekhi biologicheskoy khimii*, 2014, vol. 54, pp. 267–298 (in Russ.).
- [19] Atkins C.G., Buckley K., Blades M.W., et al. Raman spectroscopy of blood and blood components. *Appl. Spectrosc.*, 2017, vol. 71, no. 5, pp. 767–793. DOI: <https://doi.org/10.1177/0003702816686593>
- [20] Othmane A., Bitbol M., Snabre P., et al. Influence of altered phospholipid composition of the membrane outer layer on red blood cell aggregation: relation to shape changes and glycocalyx structure. *Eur. Biophys. J.*, 1990, vol. 18, no. 2, pp. 93–99. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00183268>
- [21] Maksimov G.V., Slatinskaya O.V., Tkhor E.S., et al. The role of erythrocyte receptors in regulation of the conformation and distribution of hemoglobin. *Biophysics*, 2019, vol. 64, no. 1, pp. 57–61. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0006350919010123>
- [22] Sidorenko S.V., Luneva O.G., Novozhilova T.S., et al. Hemolysis and ATP release from human and rat erythrocytes under conditions of hypoxia: a comparative study. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. A*, 2018, vol. 12, no. 2, pp. 114–120. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1990747818020125>

Mamaeva S.N. — Cand. Sc. (Phys.-Math.), Head of the Department of General and Experimental Physics, Institute of Physics and Technology, North-Eastern Federal University (Kulakovskogo ul. 48, Yakutsk, 677007 Russian Federation).

Ivanova S.M. — Cand. Sc. (Biol.), Senior Researcher, Scientific Center of the Russian Federation — Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences (Khoroshevskoe shosse 72A, str. 1, Moscow, 123007 Russian Federation).

Shutova V.V. — Cand. Sc. (Biol.), Assoc. Professor, Department of Biotechnology, Biochemistry and Bioengineering, National Research Ogarev Mordovia State University (Bolshevistskaya ul. 68, Saransk, 430005 Russian Federation).

Maksimov G.V. — Dr. Sc. (Biol.), Professor, Department of Biophysics, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University (Leninskie gory 1, Moscow, 119991 Russian Federation); Professor, Department of Physical Materials Science, MISiS (Leninskiy prospekt 4, Moscow, 119049 Russian Federation).

Please cite this article in English as:

Mamaeva S.N., Ivanova S.M., Shutova V.V., et al. Study of alterations in the erythrocytes and plasma state in monkeys' blood exposed to ionizing radiation. *Herald of the Bauman Moscow State Technical University, Series Natural Sciences*, 2022, no. 5 (104), pp. 86–104 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.18698/1812-3368-2022-5-86-104>