

ИЗМЕНЕНИЕ АРХИТЕКТониКИ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ у пациентов с COVID-19 и после него

УДК [577.352.336:616-008.851]:[616.98:578.834.1]-06



Александр Шафорост,
старший научный сотрудник
научно-исследовательской
лаборатории Гомельского
государственного
медицинского университета



Евгений Воропаев,
проректор по научной работе
Гомельского государственного
медицинского университета,
кандидат медицинских наук,
доцент; voropaev.evgenii@gmail.com

Аннотация. Проанализировано изменение механических свойств мембраны эритроцитов у пациентов с протекающей или перенесенной инфекцией COVID-19 по сравнению с контролем в период наблюдения с 2021 по 2023 г. Выявлены значимые различия величин силы трения F_l ($p < 0,001$) и шероховатости R_q ($p < 0,0032$); максимальные трансформации наблюдаются в период наибольшей заболеваемости коронавирусом. Показатели F_l и R_q могут быть применимы для оценки тяжести перенесенной инфекции, а в перспективе и иных заболеваний.

Ключевые слова: эритроциты, COVID-19, атомно-силовая микроскопия, механические свойства, сила трения, шероховатость, архитектоника.

Для цитирования: Шафорост А., Воропаев Е. Изменение архитектоники мембраны эритроцитов у пациентов с COVID-19 и после него // Наука и инновации. 2025. №1. С. 74–77.

<https://doi.org/10.29235/1818-9857-2025-01-74-77>

Острые респираторные инфекции (ОРИ) занимают лидирующее положение среди всех инфекционных заболеваний [1]. В период с 2020 по 2022 г. структура заболеваемости ОРИ изменилась вследствие пандемии COVID-19, что привело к активизации исследований в области изучения механизмов их протекания. Кровь и ее клеточные элементы играют важную роль в патогенезе острых респираторных инфекций. Они выступают в качестве маркеров протекания инфекционного процесса (увеличение/уменьшение количества отдельных популяций клеток, их размера, появление незрелых форм и изменение скорости оседания эритроцитов), анализируя которые можно судить о природе и тяжести его течения [2, 3]. Организм на размножение

вирусов или бактерий отвечает путем клеточного, а затем и гуморального иммунного ответа, что приводит к трансформации физико-химических условий, в которых существуют клетки крови, что не может не отразиться на них. Благодаря атомно-силовой микроскопии (АСМ) появилась возможность непосредственного исследования морфологии, структуры и механических свойств клеток.

Эритроциты – одни из наиболее изученных объектов. Участие, посредством гемоглобина, в переносе O_2 , CO_2 и поддержании гомеостаза (регуляция рН крови, ионного состава плазмы и водного обмена), а также существенная роль в специфическом и неспецифическом иммунитете, свертывании крови и сосудисто-тромбоцитарном гемостазе опре-

	Группа 1 (COVID-19, пост-COVID-19)	Группа 2 (контроль)
Количество	n=17	n=17
Средний возраст (мин.; макс.), лет	56,56 (28,00; 81,33)	50,60 (19,00; 73,32 лет)
Мужчины, %	11,76	23,53
Женщины, %	88,24	76,47
Наличие острых/хронических заболеваний (количество пациентов)		
COVID-19, пневмония	4	0
Сахарный диабет	3	2
Ишемическая болезнь сердца (ИБС)	2	0
Цирроз печени	4	6
Бронхиальная астма	0	1
Ревматоидный артрит	0	1
Отсутствие острых/хронических заболеваний	4	7

Таблица. Характеристика сформированных групп

деляют актуальность их исследования [4, 5]. Появление новых нозологических единиц и вовлеченность в их патогенез эритроцитов, а также поиски инновационных методов диагностики и терапии уже известных заболеваний делают эти клетки актуальным объектом биомедицинских исследований и в настоящее время.

Доказано, что у пациентов с бронхитом, пневмонией и респираторно-синцитиальной инфекцией наблюдается увеличение количества сфероцитов по сравнению с контрольной группой, а также изменяется жесткость мембраны дискоцитов и сфероцитов [6]. По имеющимся данным, вирус гриппа способен попадать внутрь эритроцитов посредством взаимодействия белка гемагглютинаина оболочки вируса с остатком сиаловой кислоты в молекуле ганглиозида на поверхности мембраны клетки. Следствием инфицирования являются гемолиз эритроцитов и нарушение процессов газообмена [7].

Есть сведения и о возможности проникновения вируса SARS-CoV-2 внутрь эритроцитов посредством взаимодействия шиповидного белка S1 вируса с белком RBC Band3 на мембране этой клетки. В результате происходит денатурация гемоглобина, что приводит к нарушению метаболизма железа, изменению биохимических процессов, дегенерации митохондрий и в конечном итоге – апоптозу клетки, усугублению гипоксии и повышению тяжести течения заболевания [8].

Ответом на описанные процессы выступает модификация физико-механических параметров мембраны эритроцитов. При COVID-19 наблюдаются

изменения микрореологических свойств крови и снижается деформируемость красных кровяных телец [9], выявляются грибовидные клетки и увеличивается количество аномальных форм эритроцитов (сфероцитов, стоматоцитов) с анизоцитозом и полихромазией [10]. Также при коронавирусной инфекции вследствие длительного воздействия воспалительных молекул (веществ, концентрация которых увеличивается при развитии воспалительного процесса) происходит активация клеточной гибели эритроцитов (эриптоза), который сопровождается их сморщиванием, вздутием клеточной мембраны, ее скремблированием (перемещением фосфолипидов с одной ее стороны на другую) с транслокацией фосфатидилсерина (ФС) на поверхность клетки [8, 9]. При этом отмеченные изменения из-за отсутствия системы биосинтеза белков не могут быть восстановлены и сохраняются некоторое время после перенесенного заболевания.

Цель нашей работы – проанализировать изменение механических свойств мембраны эритроцитов у пациентов с протекающей или перенесенной инфекцией COVID-19 по сравнению с контролем.

Материалы и методы

Для исследования были использованы образцы крови из банка научно-исследовательской лаборатории Гомельского государственного медицинского университета, разделенные на 2 группы: 1 – пациенты с протекающей (n=4) или перенесенной не более чем за 12 месяцев до забора крови инфекцией COVID-19 (n=13) в период 2021–2023 гг.; 2 – контрольная группа пациентов с отсутствием коронавирусной инфекции или перенесших ее более чем за 12 месяцев до забора крови (n=17). Описание групп приведено в *таблице*.

При приготовлении препаратов для АСМ полученные из венозной крови эритроциты фиксировали в течение 30 мин в 1%-ном растворе глутарового альдегида забуференного PBS, отмывали трижды свежим раствором PBS и два раза дистиллированной водой, затем помещали на предварительно подготовленные стекла и высушивали при комнатной температуре. АСМ-исследования проводили на атомно-силовом микроскопе НТ-206 (ОДО «Микротестмашины», Беларусь) в контактном режиме с использованием зонда CSC38 (игла В, коэффициент жесткости 0,03 Н/м). Для анализа карт рельефа и латеральных сил использовали АСМ-изображения размером 2,5×2,5 мкм с разрешением 256×256 точек. Обработку полученных данных осуществляли с помощью программы «SurfaceExplore 1.3.11»

(ОДО «Микротестмашины», Беларусь). В режиме карты латеральных сил оценивали показатели силы трения (F_l или F_f) и шероховатости (Rq). Величину силы трения рассчитывали как полуразность латеральных сил при прямом и обратном проходе зонда [13]. Результаты представлены в виде $\bar{X} \pm 95\%$ доверительный интервал (ДИ). Выборки сравнивались с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни и теста Крускала – Уоллиса.

Результаты и обсуждение

Было обследовано 17 пациентов 1-й группы и столько же 2-й. Обе имели близкую половозрастную структуру (таблица): 1-я группа (COVID-19, пост-COVID-19) – средний возраст 56,56 года (28,00;81,33), мужчины 11,76% (n=2), женщины 88,24% (n=15); 2-я (контроль) – средний возраст 50,60 года (19,00;73,32), мужчины 23,53% (n=4), женщины 76,47% (n=13).

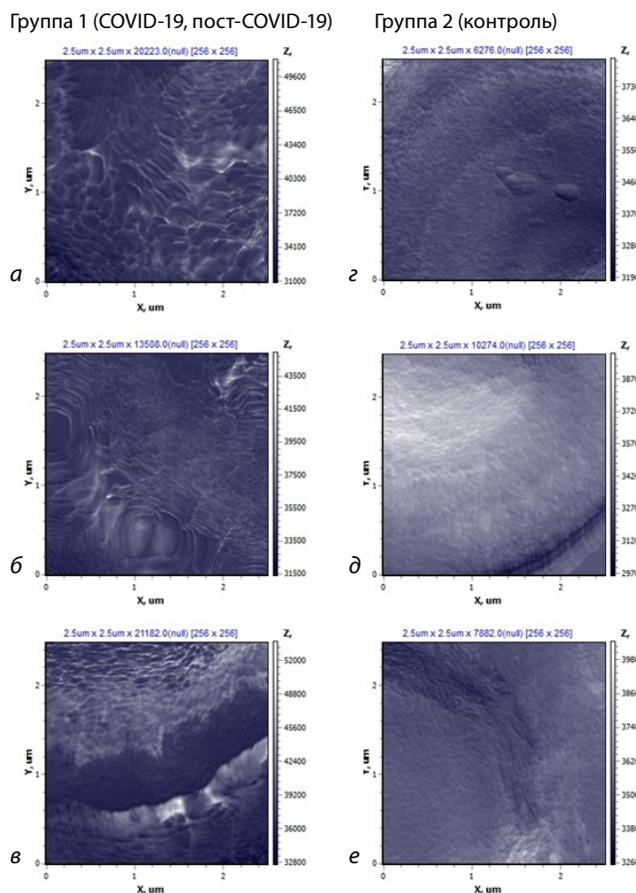


Рис. 1. Изображения поверхности мембраны эритроцитов в режиме карты латеральных сил у пациентов с острой/перенесенной коронавирусной инфекцией (а, б, в) и пациентов из контрольной группы (г, д, е)

Наиболее распространенными заболеваниями были: в группе 1 – COVID-19, пневмония (n=4), цирроз печени (n=4), сахарный диабет (n=3) и ИБС (n=2); в группе 2 – цирроз печени (n=6), сахарный диабет (n=2), бронхиальная астма (n=1) и ревматоидный артрит (n=1). Отсутствие острых/хронических заболеваний отмечено у 4 пациентов 1-й и 7 – 2-й группы.

В рамках настоящего исследования для анализа механических свойств мембраны эритроцитов было получено 385 изображений поверхности клеток размером 2,5×2,5 мкм (198 – экспериментальная группа, 187 – контроль). Примеры изображений данного участка красных кровяных телец представлены на рис. 1.

Поверхность эритроцитов в режиме карты латеральных сил у пациентов из группы 1 характеризуется увеличением размера отдельных элементов и наличием неоднородностей структуры мембраны (рис. 1 а, б, в). В контроле количество клеток с подобными характеристиками существенно ниже. Большинство эритроцитов имеют более упорядоченную структуру поверхности, образуемую более мелкими элементами (рис. 1 г, д, е), чем в первой группе.

Морфологические особенности мембраны в сравниваемых группах согласуются с изменениями величин силы трения и шероховатости, полученными при обработке АСМ-изображений с использованием программы «SurfaceExplore 1.3.11». Величина F_l в 1-й группе равна 1798,60±180,28 усл. ед., что в 1,58 раза выше, чем в контроле (1139,77±90,70; p<0,001). Подобное увеличение силы трения наблюдается при бронхите, пневмонии и респираторно-синцитиальной инфекции [6] и свидетельствует о повышении жесткости мембраны эритроцитов, что может оказывать влияние на их способность проникать сквозь стенку сосудов и содействовать развитию локальной гипоксии. Выявлены значимые различия Rq поверхности эритроцитов: 1601,65±179,01 усл. ед. в 1-й группе против 1156,48±114,86 усл. ед. (p<0,0032) во 2-й. Анализ взаимосвязи значения F_l и Rq с диагнозом острого или хронического заболевания, в том числе внутри экспериментальной и контрольной групп, не выявил значимой зависимости между данными показателями.

Параметры механических свойств мембраны эритроцитов у пациентов обеих групп в различные сроки наблюдения представлены на рис. 2.

Максимальные значения величины силы трения отмечаются в образцах эритроцитов из 1-й группы в 2021 г. (2343,16±461,10 усл.ед.) и 2022 г. (2417,75±308,84 усл.ед.), что в 1,54 (p=0,159) и 1,59 (p=0,0003) раза выше, чем в образцах контрольной

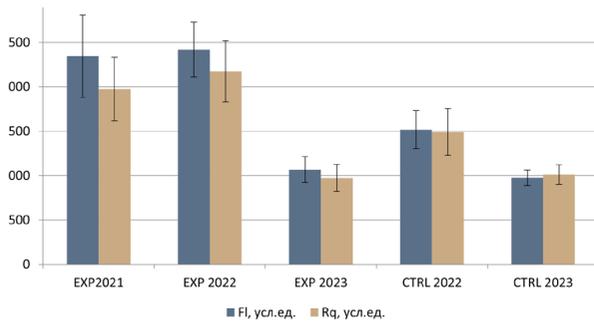


Рис. 2. Параметры механических свойств силы трения и шероховатости мембраны эритроцитов пациентов с острой/перенесенной коронавирусной инфекцией (EXP) и пациентов из контрольной группы (CTRL) в период наблюдения с 2021 по 2023 г.

группы 2022 г. Различия FI между группами в 2023 г. носят незначительный характер. Аналогичным образом ведет себя и показатель Rq. Таким образом, более значительное изменение архитектоники мембраны эритроцитов отмечается в период наибольшей заболеваемости COVID-19 в результате ее повреждения при взаимодействии с коронавирусом SARS-CoV-2.

Выводы

У пациентов экспериментальной группы с острой/перенесенной коронавирусной инфекцией выявлено значимое увеличение значений силы трения ($1798,60 \pm 180,28$ усл. ед.; $p < 0,001$) и шероховатости ($1601,65 \pm 179,01$ усл. ед.; $p < 0,0032$) поверхности эритроцитов по сравнению с контролем. Наиболее явно эти изменения были выражены в 2021 и 2022 гг., с нормализацией относительно контроля в 2023 г. Описанные различия механических свойств мембраны эритроцитов могут быть связаны с высокой заболеваемостью COVID-19 в 2021–2022 гг., относительно более тяжелым протеканием заболевания (в том числе более сильным иммунным ответом с

гиперсекрецией провоспалительных цитокинов), что приводило к выраженным повреждениям мембраны исследуемых клеток.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования параметров архитектоники эритроцитов для оценки тяжести перенесенной коронавирусной инфекции, а в перспективе – и иных заболеваний.

Работа проводилась на базе НИЛ ГомГМУ в рамках выполнения НИР «Разработать алгоритм прогнозирования пост-COVID-19 ассоциированной патологии на основании изучения клинико-лабораторных и функциональных показателей» ГПНИ «Трансляционная медицина» и НИР «Изучить особенности микробиоты различных биотопов организма человека в норме и при патологических состояниях, оценить ее значение в развитии связанных с ними заболеваний» ГПНИ «Трансляционная медицина».

Статья поступила в редакцию
11.07.2024 г.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- WHO European health information at your fingertips // https://gateway.euro.who.int/en/indicators/hfa_290-1960-sdr-acute-respiratory-infections-pneumonia-and-influenza-under-5-years-per-100-000/.
- Dysregulation in erythrocyte dynamics caused by SARS-CoV-2 infection: possible role in shuffling the homeostatic puzzle during COVID-19 / M.M. Mendonça [et al.] // Rev Bras Hematol Hemoter. 2022. Vol. 44, №2. P. 235–245.
- Гематология // Б.В. Афанасьев [и др.]. – СПб., 2019.
- Шейко Л.М. Практикум по медицинской и биологической физике. Раздел «Биологическая физика»: Методы биофизических исследований // Л.М. Шейко, С.Б. Бокуть. – Минск, 2011.
- Erythrocytes morphology and hemorheology in severe bacterial infection / A.F. Silva [et al.] // Mem Inst Oswaldo Cruz. 2019. Vol. 114. P. e190326.
- АСМ-диагностика патологии эритроцитов на основе физико-механического образа клеточной поверхности / М.Н. Стародубцева [и др.] // Проблемы здоровья и экологии. 2015. №2 (44). С. 99–104.
- Макарова Е.С. Изучение взаимодействия вируса гриппа с единичными клетками эпителия и эритроцитами / Е.С. Макарова, И.В. Яминский // Медицина и высокие технологии. 2016. №1. С. 39–55.
- Cavezzi A. COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review / A. Cavezzi, E. Troiani, S. Corrao // Clin Pract. 2020. Vol. 10, №2. P. 1271.
- Filterability of Erythrocytes in Patients with COVID-19 / D.S. Prudinnik [et al.] // Biomolecules. 2022. Vol. 12, №6. P. 782.
- Are mushroom-shaped erythrocytes an indicator of COVID-19? / D. Gérard [et al.] // British Journal of Haematology. 2021. Vol. 192, №2. P. 230–230.
- Soma P. Pathophysiological changes in erythrocytes contributing to complications of inflammation and coagulation in COVID-19 / P. Soma, J. Bester // Front Physiol. 2022. Vol. 13. P. 899629.
- Eryptosis in health and disease: A paradigm shift towards understanding the (patho) physiological implications of programmed cell death of erythrocytes / S.M. Qadri [и др.] // Blood Rev. 2017. Vol. 31, №6. С. 349–361.
- Применение атомно-силового микроскопа в медико-биологических исследованиях: Приложение к руководству пользователя атомно-силового микроскопа NT-206 / М.Н. Стародубцева [и др.]. – Гомель, 2013.

■ **Summary.** The change in the mechanical properties of the red blood cell membrane was analyzed in patients with ongoing or past COVID-19 infection compared to the control during the observation period from 2021 to 2023. Significant differences in the friction force ($p < 0,001$) and roughness ($p < 0,0032$) of the red blood cell membrane were found in patients with acute/past coronavirus infection compared to the control. It was noted that the maximum changes in the properties of the red blood cell membrane are observed during the period of the highest incidence of COVID-19. The friction force (FI) and roughness (Rq) of the red blood cell membrane can be used to assess the severity of past coronavirus infection, and in the future, other diseases.

■ **Keywords:** red blood cells, COVID-19, atomic force microscopy, mechanical properties, friction force, roughness, architectonics.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2024-01-74-77>