

УДК [576.385:612.1]+612.67

DOI: 10.37482/2687-1491-Z043

ВЛИЯНИЕ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ НА СВОЙСТВА КЛЕТОК КРОВИ ЧЕЛОВЕКА ПРИ СТАРЕНИИ ОРГАНИЗМА¹

Е.А. Сладкова* ORCID: [0000-0003-3072-2402](https://orcid.org/0000-0003-3072-2402)

*Белгородский государственный национальный исследовательский университет
(г. Белгород)

Молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) и производные нуклеотиды способствуют широкому спектру клеточных реакций посредством активации пуринергических рецепторов А₂- и Р₂-типов, расположенных на клеточной поверхности. Почти каждый тип клеток экспрессирует такие рецепторы, в т. ч. эритроциты и лейкоциты. Изучение пуринергической передачи сигналов, опосредующих мобилизацию кальция, полимеризацию актина, хемотаксис, высвобождение медиаторов, оксигенацию тканей, созревание клеток, цитотоксичность, гибель клеток и межклеточные взаимодействия в динамике на разных этапах онтогенеза, является актуальным направлением современной биологии и медицины. Целью представленной работы явилось изучение биофизических свойств форменных элементов крови при активации пуринергической сигнальной системы у лиц зрелого и пожилого возраста. В выполненном исследовании для активации элементов пуринергической сигнальной системы применена модель механического стресса *in vitro*. При анализе образцов крови использовались методы атомно-силовой микроскопии – силовая спектроскопия и метод зонда Кельвина. При активации пуринергической сигнальной системы показано увеличение концентрации АТФ в крови людей как зрелого, так и пожилого возраста. В крови лиц пожилого возраста зафиксировано меньшее количество АТФ по сравнению с кровью людей зрелого возраста, что может быть обусловлено изменением экспрессии пуриновых рецепторов на поверхности эритроцитов при старении организма. Для эритроцитов и гранулоцитов людей пожилого возраста при активации пуринергической сигнальной системы характерны более высокие жесткость и потенциал поверхности по сравнению с клетками людей зрелого возраста. Жесткость мембраны лимфоцитов у людей пожилого возраста увеличивается в большей степени, чем у людей зрелого возраста, в ответ на механический стресс. Таким образом, полученные результаты указывают на важную роль молекулы АТФ и ее производных в регуляции работы форменных элементов крови посредством связывания с рецепторами Р₂-семейства. Исследование изменений биофизических свойств эритроцитов и лейкоцитов при активации пуринергической сигнальной системы позволит установить новые эффекты пуриновых соединений в межклеточном взаимодействии при старении организма.

Ключевые слова: пуринергическая сигнальная система, эритроциты, лейкоциты, потенциал поверхности, модуль Юнга, АТФ, зрелый возраст, пожилой возраст.

¹Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда по мероприятию «Проведение инициативных исследований молодыми учеными» (2018–2020 годы, соглашение № 18-75-00041).

Ответственный за переписку: Сладкова Евгения Анатольевна, адрес: 308015, г. Белгород, ул. Победы, д. 85, корп. 10, ауд. 2-5; e-mail: sladkova@bsu.edu.ru

Для цитирования: Сладкова Е.А. Влияние пуринергической сигнальной системы на свойства клеток крови человека при старении организма // Журн. мед.-биол. исследований. 2021. Т. 9, № 1. С. 51–57. DOI: 10.37482/2687-1491-Z043

Старение организма неизбежно сопровождается повышением вероятности развития патологических процессов, во многом обусловленных молекулярно-клеточными изменениями в тканях организма с возрастом [1], а также изменениями реологических свойств крови [2], что связано с нарушениями функционального состояния плазмалеммы различных клеток. В ряде исследований приведены данные о вовлечении рецепторных комплексов на поверхности клеток крови, эндотелиоцитов и кардиомиоцитов в развитие различных сердечно-сосудистых патологий – инфаркта миокарда, сердечной недостаточности, артериальной гипертензии, инсульта, тромбоза [3]. Так, пуринергическая сигнальная система участвует в процессах, связанных с дегенеративными заболеваниями при старении организма [4], среди наиболее известных – атеросклероз, гипертония, болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона и рассеянный склероз [5]. Развитие данных патологических состояний связывают с нарушением передачи сигналов, опосредованных нуклеотидами и нуклеозидами аденина, экспрессией или активностью внеклеточных эктонуклеотидаз и активацией рецепторов P2X и P2Y на клетках эндотелия сосудов, сердечной мышцы, а также на форменных элементах крови, в т. ч. формирующих иммунологическую толерантность организма [6].

Физиологическая активность иммунокомпетентных клеток и их непосредственное участие в межклеточной коммуникации в большинстве случаев зависят от свойств плазмалеммы. При выполнении основных иммунокомпетентных и регуляторных функций ключевыми свойствами, которые позволяют форменным элементам крови реализовывать свои физиологические функции, выступают жесткость и потенциал поверхности.

В связи с вышеизложенным целью работы – изучить биофизические свойства форменных элементов крови при активации пуринергической сигнальной системы у лиц зрелого и пожилого возраста.

Материалы и методы. В эксперименте использовали кровь практически здоровых

людей-добровольцев зрелого (45–59 лет) и пожилого (60–74 лет) возраста (по 30 человек в каждой группе). Забор крови осуществляли из локтевой вены с участием специализированного медперсонала. Исследование выполнено с соблюдением требований Хельсинкской декларации (с изменениями 2013 года), было получено информированное согласие всех субъектов эксперимента.

Для активации пуринергической сигнальной системы использована модель механического стресса *in vitro* согласно методике, описанной в работе [7]. Каждый образец крови был разделен на опытную и контрольную пробы. Опытные пробы крови подвергали механическому стрессу, контрольные оставляли без воздействия.

С целью оценки концентрации аденозинтрифосфата (АТФ), вырабатываемого эритроцитами при проведении механического стресса *in vitro*, измеряли АТФ в исследуемых пробах колориметрическим методом, используя фотометр фотоэлектрический КФК-3 (Россия, 2008).

Разделение проб крови на лейкоциты и эритроциты осуществляли путем центрифугирования образцов в течение 10 мин при 1000 об./мин. Надосадочную жидкость и лейкоцитарное кольцо отбирали, затем центрифугировали 10 мин при той же скорости. Получали суспензию лейкоцитов.

Модуль Юнга лейкоцитов измеряли в режиме силовой спектроскопии на атомно-силовом микроскопе «ИНТЕГРА Вита» (NT-MTD, г. Зеленоград) согласно разработанному нами способу [8]. Из каждой пробы сканировали по 20 клеток; таким образом, общая выборка клеточной популяции составила по 600 клеток в каждой возрастной группе.

Применяемый в настоящее время метод зонда Кельвина основывается на двухпроходной методике. На первом проходе определяется рельеф поверхности образца с использованием полуконтактного метода сканирования [9]. На втором проходе этот рельеф отслеживается при прохождении зонда над образцом на некоторой высоте для определения поверхностно-

го электрического потенциала. Измерение потенциала поверхности (ПП) осуществляли с помощью кантилевера с токопроводящим титановым покрытием серии NSG03/TiN (Nanoworld, США). Из каждой пробы сканировали по 15 клеток, обработку полученных сканов проводили в программе Nova (NT-MDT). На сканах, отражающих распределение потенциала по поверхности лимфоцитов, с помощью инструмента «Point Instruments» в программе Nova определяли ПП в 10 участках каждой клетки, рассчитывали среднее значение для всех клеток пробы.

Экспериментальные данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием пакета анализа Microsoft Excel 7.0 на персональном компьютере. Результаты исследований представлены в виде среднеарифметических значений с их средними стандартными ошибками ($M \pm m$). Исследуемые параметры находились в пределах нормального распределения. Статистический анализ проводили с использованием критерия Стьюдента для 5 %-го уровня значимости.

Результаты. Колориметрическим методом установлено, что при активации пуринергической сигнальной системы концентрация АТФ в крови людей зрелого возраста составила $0,032 \pm 0,001$ мкмоль/л, а пожилого – $0,021 \pm 0,001$ мкмоль/л, что соответственно в 2,3 и 2,6 раза выше, чем в интактной крови. При этом показано, что при моделировании механического стресса *in vitro* в крови людей зрелого возраста концентрация АТФ была выше на 34 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателем в группе людей пожилого возраста.

Методом атомно-силовой микроскопии установлено, что при активации пуринергической сигнальной системы упруго-эластические свойства форменных элементов крови в зрелом и пожилом возрасте имеют существенные различия (см. *таблицу*): модуль Юнга эритроцитов и гранулоцитов людей пожилого возраста выше соответственно на 34 и 31 % ($p < 0,05$) по сравнению с клетками в группе людей зрелого возраста.

В режиме зонда Кельвина атомно-силового микроскопа измерен ПП эритроцитов и лейко-

**БИОФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ
ПРАКТИЧЕСКИ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ ЗРЕЛОГО И ПОЖИЛОГО ВОЗРАСТА
ПРИ АКТИВАЦИИ ПУРИНЕРГИЧЕСКОЙ СИГНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ *in vitro* ($M \pm m$)**

**BIOPHYSICAL PROPERTIES OF BLOOD CELLS
IN APPARENTLY HEALTHY MIDDLE-AGED PEOPLE AND OLDER ADULTS
AT ACTIVATION OF THE PURINERGIC SIGNALLING SYSTEM *in vitro* ($M \pm m$)**

Тип клеток	Группа зрелого возраста (45–59 лет, $n = 30$)	Группа пожилого возраста (60–74 лет, $n = 30$)
<i>Модуль Юнга, мкПа</i>		
Эритроциты	2,3±0,1	3,5±0,1*
Гранулоциты	3,5±0,2	5,1±0,1*
Лимфоциты	11,5±0,2	3,6±0,1*
<i>Потенциал поверхности, мВ</i>		
Эритроциты	–28,4±4,8	–10,7±1,2*
Гранулоциты	–46,7±4,3	–17,5±0,6*
Лимфоциты	–27,1±0,3	–28,7±0,3

Примечание: * – установлены статистически значимые различия между показателями двух групп обследуемых ($p < 0,05$ по критерию Стьюдента).

цитов в крови представителей разных возрастных групп в условиях стимуляции пуриновых рецепторов (см. таблицу). ПП эритроцитов и гранулоцитов в пожилом возрасте стал более положительным, что выше соответственно на 62 и 63 % ($p < 0,05$) по сравнению с показателями форменных элементов крови людей зрелого возраста.

Обсуждение. Представленное исследование показало увеличение концентрации АТФ в условиях механической деформации мембран форменных элементов крови, что подтверждает активацию пуринергической сигнальной системы [10]. В крови людей пожилого возраста зафиксировано меньшее количество АТФ по сравнению с кровью людей зрелого возраста. Возможно, это связано с изменением экспрессии пуриновых А2-рецепторов к аденозину, локализованных на поверхности эритроцитов, при старении организма [11], т. к. именно эритроциты экскретируют АТФ в ответ на механический стресс [10]. О различиях в организации рецепторного комплекса и функциональной активности плазмалеммы эритроцитов у лиц зрелого и пожилого возраста свидетельствует и установленное нами большее повышение жесткости и ПП в условиях механического стресса у пожилых обследуемых. Подобные изменения могут быть обусловлены нарушениями в составе сфинголипидов бислоя мембран клеток в пожилом возрасте [12].

При активации пуринергической сигнальной системы гранулоциты людей пожилого возраста становятся более жесткими, чем у людей зрелого возраста, при этом ПП повышается, что может указывать на снижение активности ферментов при старении и тормозит такие функционально важные мембранные процессы, как связывание пуриновых рецепторов со вторичными мессенджерами и лигандами [13]. Так, показано снижение экспрессии пуриновых рецепторов P2Y1 и P2Y2 в пожилом возрасте [4].

Поскольку на клеточном уровне биоэлектрические процессы реализуются за счет работы ионных каналов мембраны [9], пред-

ставляется возможным говорить о сниженной проводимости для ионов Ca^{2+} у гранулоцитов [14] в крови лиц пожилого возраста по сравнению с клетками людей зрелого возраста, что согласуется с имеющимися данными [10] о функционировании пуриновых рецепторов как мембранных каналов.

В условиях активации пуринергической сигнальной системы модуль Юнга лимфоцитов людей пожилого возраста, в отличие от гранулоцитов, значительно снижается по сравнению с показателем для клеток людей зрелого возраста. Подобные изменения могут быть связаны с запуском и реализацией пуринергического сигнального каскада посредством работы разных рецепторов лимфоцитов и гранулоцитов. Преобладающими подтипами рецепторов пуринергической сигнальной системы на плазмалемме гранулоцитов являются P2Y1, 2, 4, 6, 11 [15]. На поверхности лимфоцитов в большей степени локализованы рецепторы семейства P2X [16].

Таким образом, при моделировании механического стресса *in vitro* показано увеличение концентрации молекулы АТФ в крови людей как зрелого, так и пожилого возраста, что указывает на активацию пуринергического сигнального каскада. При этом при старении организма количество АТФ в плазме крови снижается. Жесткость и ПП эритроцитов и гранулоцитов в условиях механического стресса у людей пожилого возраста выше в сравнении с представителями зрелого возраста. Одновременно с этим активация пуринергической сигнальной системы приводит к большему снижению модуля Юнга лимфоцитов при старении организма.

Полученные экспериментальные данные могут быть полезны при изучении роли пуринергической сигнальной системы в развитии возрастных патологий. Понимание особенностей передачи сигналов пуринергическими рецепторами имеет решающее значение для поддержания нормальных физиологических процессов при старении организма.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Список литературы

1. Olivieri A., Pala M., Gandini F., Hooshiar Kashani B., Perego U.A., Woodward S.R., Grugni V., Battaglia V., Semino O., Achilli A., Richards M.B., Torroni A. Mitogenomes from Two Uncommon Haplogroups Mark Late Glacial/ Postglacial Expansions from the Near East and Neolithic Dispersals Within Europe // PLoS One. 2013. Vol. 8, № 7. Art. № e70492. DOI: [10.1371/journal.pone.0070492](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070492)
2. Узикова Е.В., Милорадов М.Ю., Левин В.Н., Булаева С.В., Муравьев А.В., Чиркова Ж.В. Исследование изменения агрегации эритроцитов при инкубации с замещенными 4-гидрокси-6,7-дициано-1,4-бензоксазин-3-онами // Ярослав. пед. вестн. 2011. Т. 3, № 4. С. 108–112.
3. Burnstock G. Purinergic Signalling // Br. J. Pharmacol. 2006. Vol. 147, suppl. 1. P. 172–181. DOI: [10.1038/sj.bjp.0706429](https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706429)
4. Bagatini M.D., Dos Santos A.A., Cardoso A.M., Mânica A., Reschke C.R., Carvalho F.B. The Impact of Purinergic System Enzymes on Noncommunicable, Neurological, and Degenerative Diseases // J. Immunol. Res. 2018. Vol. 2018. Art. № 4892473. DOI: [10.1155/2018/4892473](https://doi.org/10.1155/2018/4892473)
5. Cieślak M., Czarnecka J., Roszek K. The Roles of Purinergic Signaling in Psychiatric Disorders // Acta Biochim. Pol. 2016. Vol. 63, № 1. P. 1–9. DOI: [10.18388/abp.2015_1004](https://doi.org/10.18388/abp.2015_1004)
6. Jimenez-Pacheco A., Diaz-Hernandez M., Arribas-Blazquez M. Transient P2X7 Receptor Antagonism Produces Lasting Reductions in Spontaneous Seizures and Gliosis in Experimental Temporal Lobe Epilepsy // J. Neurosci. 2016. Vol. 36, № 22. P. 5920–5932.
7. Oonishi T., Sakashita K., Uyesaka N. Regulation of Red Blood Cell Filterability by Ca²⁺ Influx and cAMP-Mediated Signaling Pathways // Am. J. Physiol. 1997. Vol. 273, № 6. P. C1828–C1834. DOI: [10.1152/ajpcell.1997.273.6.C1828](https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.6.C1828)
8. Патент № 2466401 Российская Федерация, МПК G01N 33/49. Способ определения упругости клеток крови: № 2011109741/15: заявл. 15.03.2011; опублик. 10.11.2012 / Скоркина М.Ю., Федорова М.З., Забиняков Н.А., Сладкова Е.А. 9 с.
9. Сладкова Е.А., Скоркина М.Ю. Оценка поверхностного потенциала лимфоцитов больных лейкозом методом зонда Кельвина // Биофизика. 2014. Т. 59, № 2. С. 310–313.
10. Baroja-Mazo A., Barberà-Cremades M., Pelegrín P. The Participation of Plasma Membrane Hemichannels to Purinergic Signaling // Biochim. Biophys. Acta. 2013. Vol. 1828, № 1. P. 79–93. DOI: [10.1016/j.bbamem.2012.01.002](https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.01.002)
11. Коваленко С.С., Юсупович А.И., Паршина Е.Ю., Максимов Г.В. Роль пуринергических рецепторов эритроцита в регуляции конформации и способности гемоглобина переносить кислород и оксид азота (II) // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2015. Т. 159(2). С. 170–173.
12. Graf M., Prins R.M., Merchant R.E. IL-6 Secretion by a Rat T9 Glioma Clone Induces a Neutrophil-Dependent Antitumor Response with Resultant Cellular, Antiglioma Immunity // J. Immunol. 2001. Vol. 116, № 1. P. 121–129. DOI: [10.4049/jimmunol.166.1.121](https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.1.121)
13. Burnstock G. Purinergic Signalling: Pathophysiology and Therapeutic Potential // Keio J. Med. 2013. Vol. 62, № 3. P. 63–73. DOI: [10.2302/kjm.2013-0003-re](https://doi.org/10.2302/kjm.2013-0003-re)
14. Jarvis M.F. Characterization of P1 (Adenosine) Purinoceptors // Curr. Protocols Pharmacol. 2013. Vol. 62, № 1. P. 1.9.1–1.9.16. DOI: [10.1002/0471141755.ph0109s62](https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0109s62)
15. Chen Y., Yao Y., Sumi Y., Li A., To U.K., Elkhali A., Inoue Y., Woehrle T., Zhang Q., Hauser C., Junger W.G. Purinergic Signaling: A Fundamental Mechanism in Neutrophil Activation // Sci. Signal. 2010. Vol. 3, № 125. Art. № ra45. DOI: [10.1126/scisignal.2000549](https://doi.org/10.1126/scisignal.2000549)
16. North R.A. P2X Receptors // Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 2016. Vol. 371, № 1700. Art. № 20150427. DOI: [10.1098/rstb.2015.0427](https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0427)

References

1. Olivieri A., Pala M., Gandini F., Hooshar Kashani B., Perego U.A., Woodward S.R., Grugni V., Battaglia V., Semino O., Achilli A., Richards M.B., Torroni A. Mitogenomes from Two Uncommon Haplogroups Mark Late Glacial/ Postglacial Expansions from the Near East and Neolithic Dispersals Within Europe. *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 7. Art. no. e70492. DOI: [10.1371/journal.pone.0070492](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070492)
2. Uzikova E.V., Miloradov M.Yu., Levin V.N., Bulaeva S.V., Murav'ev A.V., Chirkova Zh.V. Issledovanie izmeneniya agregatsii eritrotsitov pri inkubatsii s zameshchennymi 4-gidroksi-6,7-ditsiano-1,4-benzoksazin-3-onami [Research of Change of Red Blood Cell Aggregation During Incubation with 4-Hydroxy-6,7-Dicyanobenzoxazine-3-Ones]. *Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik*, 2011, vol. 3, no. 4, pp. 108–112.
3. Burnstock G. Purinergic Signalling. *Br. J. Pharmacol.*, 2006, vol. 147, suppl. 1, pp. S172–S181. DOI: [10.1038/sj.bjp.0706429](https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706429)
4. Bagatini M.D., Dos Santos A.A., Cardoso A.M., Mânica A., Reschke C.R., Carvalho F.B. The Impact of Purinergic System Enzymes on Noncommunicable, Neurological, and Degenerative Diseases. *J. Immunol. Res.*, 2018, vol. 2018. Art. no. 4892473. DOI: [10.1155/2018/4892473](https://doi.org/10.1155/2018/4892473)
5. Cieślak M., Czarnecka J., Roszek K. The Roles of Purinergic Signaling in Psychiatric Disorders. *Acta Biochim. Pol.*, 2016, vol. 63, no. 1, pp. 1–9. DOI: [10.18388/abp.2015_1004](https://doi.org/10.18388/abp.2015_1004)
6. Jimenez-Pacheco A., Diaz-Hernandez M., Arribas-Blázquez M., Sanz-Rodriguez A., Olivos-Oré L.A., Artalejo A.R., Alves M., Letavic M., Miras-Portugal M.T., Conroy R.M., Delanty N., Farrell M.A., O'Brien D.F., Bhattacharya A., Engel T., Henshall D.C. Transient P2X7 Receptor Antagonism Produces Lasting Reductions in Spontaneous Seizures and Gliosis in Experimental Temporal Lobe Epilepsy. *J. Neurosci.*, 2016, vol. 36, no. 22, pp. 5920–5932. DOI: [10.1523/JNEUROSCI.4009-15.2016](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4009-15.2016)
7. Oonishi T., Sakashita K., Uyesaka N. Regulation of Red Blood Cell Filterability by Ca²⁺ Influx and cAMP-Mediated Signaling Pathways. *Am. J. Physiol.*, 1997, vol. 273, no. 6, pp. C1828–C1834. DOI: [10.1152/ajpcell.1997.273.6.C1828](https://doi.org/10.1152/ajpcell.1997.273.6.C1828)
8. Skorkina M.Yu., Fedorova M.Z., Zabinyakov N.A., Sladkova E.A. *Method for Determining Blood Cell Elasticity*. Patent RF no. 2466401, 2011 (in Russ.).
9. Sladkova E.A., Skorkina M.Y. Estimation of Surface Potential of Lymphocytes from Patients with Leukemia Using Kelvin Probe Mode. *Biophysics*, 2014, vol. 59, no. 2, pp. 254–256.
10. Baroja-Mazo A., Barberà-Cremades M., Pelegrín P. The Participation of Plasma Membrane Hemichannels to Purinergic Signaling. *Biochim. Biophys. Acta*, 2013, vol. 1828, no. 1, pp. 79–93. DOI: [10.1016/j.bbamem.2012.01.002](https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.01.002)
11. Kovalenko S.S., Yusipovich A.I., Parshina E.Y., Maksimov G.V. Role of Purinergic Receptors of Erythrocytes in the Regulation of Conformation and Oxygen- and NO-Transporting Capacity of Hemoglobin. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2015, vol. 159, no. 2, pp. 213–216.
12. Graf M., Prins R.M., Merchant R.E. IL-6 Secretion by a Rat T9 Glioma Clone Induces a Neutrophil-Dependent Antitumor Response with Resultant Cellular, Antiglioma Immunity. *J. Immunol.*, 2001, vol. 166, no. 1, pp. 121–129. DOI: [10.4049/jimmunol.166.1.121](https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.1.121)
13. Burnstock G. Purinergic Signalling: Pathophysiology and Therapeutic Potential. *Keio J. Med.*, 2013, vol. 62, no. 3, pp. 63–73. DOI: [10.2302/kjm.2013-0003-re](https://doi.org/10.2302/kjm.2013-0003-re)
14. Jarvis M.F. Characterization of P1 (Adenosine) Purinoceptors. *Curr. Protocols Pharmacol.*, 2013, vol. 62, no. 1, pp. 1.9.1–1.9.16. DOI: [10.1002/0471141755.ph0109s62](https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0109s62)
15. Chen Y., Yao Y., Sumi Y., Li A., To U.K., Elkhali A., Inoue Y., Woehrle T., Zhang Q., Hauser C., Junger W.G. Purinergic Signaling: A Fundamental Mechanism in Neutrophil Activation. *Sci. Signal.*, 2010, vol. 3, no. 125. Art. no. ra45. DOI: [10.1126/scisignal.2000549](https://doi.org/10.1126/scisignal.2000549)
16. North R.A. P2X Receptors. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 2016, vol. 371, no. 1700. Art. no. 20150427. DOI: [10.1098/rstb.2015.0427](https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0427)

DOI: 10.37482/2687-1491-Z043

*Evgeniya A. Sladkova** ORCID: [0000-0003-3072-2402](https://orcid.org/0000-0003-3072-2402)

*Belgorod State National Research University
(Belgorod, Russian Federation)

INFLUENCE OF THE PURINERGIC SIGNALLING SYSTEM ON THE PROPERTIES OF HUMAN BLOOD CELLS AT AGEING

Adenosine triphosphate (ATP) molecules and nucleotide derivatives contribute to a wide range of cellular reactions through the activation of A2 and P2 purinergic receptors located on the cell surface. Almost any type of cells expresses such receptors, including red blood cells and white blood cells. The study of purinergic transmission of signals mediating calcium mobilization, actin polymerization, chemotaxis, release of mediators, tissue oxygenation, cell maturation, cytotoxicity, cell death and cell–cell interactions in dynamics at different stages of ontogenesis is an important issue in biology and medicine today. This paper aimed to explore the biophysical properties of blood cells during the activation of the purinergic signalling system in middle-aged people and older adults. To activate the elements of the purinergic signalling system, an *in vitro* model of mechanical stress was used. Blood samples were analysed using the methods of atomic force microscopy, namely, force spectroscopy and the Kelvin probe. When the purinergic signalling system is activated, an increase in ATP blood concentration is identified in the blood of both middle-aged people and older adults. In the blood of older adults, a smaller amount of ATP was recorded compared with the blood of middle-aged people, which can be due to changes in the expression of purinoreceptors on the surface of red blood cells at ageing. Erythrocytes and granulocytes in older adults are characterized by increased surface stiffness and potential upon activation of the purinergic signalling system, compared with cells of middle-aged people. In response to mechanical stress, lymphocyte membrane stiffness in older adults increases more significantly than in middle-aged people. Thus, the results indicate an important role of the ATP molecule and its derivatives in the regulation of functioning of blood cells through binding to receptors of the P2 family. Research on the changes in the biophysical properties of red blood cells and white blood cells at activation of the purinergic signalling system will allow us to identify new effects of purine compounds on intercellular interaction during ageing.

Keywords: *purinergic signalling system, red blood cells, white blood cells, surface potential, Young's modulus, ATP, middle age, old age.*

Поступила 22.03.2020

Принята 08.10.2020

Received 22 March 2020

Accepted 8 October 2020

Corresponding author: Evgeniya Sladkova, address: ul. Pobedy 85, korp. 20, aud. 2-5, Belgorod, 308015, Russian Federation; e-mail: sladkova@bsu.edu.ru

For citation: Sladkova E.A. Influence of the Purinergic Signalling System on the Properties of Human Blood Cells at Ageing. *Journal of Medical and Biological Research*, 2021, vol. 9, no. 1, pp. 51–57. DOI: 10.37482/2687-1491-Z043