

УДК 616.12-009.72

М.К. Боровская, Э.Э. Кузнецова, В.Г. Горохова, Л.Б. Корякина, Т.Е. Курильская,
Ю.И. Пивоваров

**СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТА
И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ПАТОЛОГИЯХ РАЗНОГО ГЕНЕЗА**

Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН, Иркутск

В статье рассмотрены общие принципы строения цитоскелета эритроцита и структурно-функциональные свойства его мембраны. Приведены данные о роли различных компонентов эритроцитарной мембраны в их взаимодействии с внеклеточным матриксом. Представлены основные типовые нарушения структуры и функции красных клеток крови при патологиях разного генеза.

Ключевые слова: эритроцит, мембрана, строение и свойства мембраны, мембранная патология

**STRUCTURAL AND FUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF MEMBRANE'S ERYTHROCYTE
AND ITS CHANGE AT PATHOLOGIES OF VARIOUS GENESIS**

M.K. Borovskaya, E.E. Kuznetsov, V.G. Gorokhova, L.B. Koriakina, T.E. Kuril'skaya,
Yu.I. Pivovarov

Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk

General principles of erythrocyte's cytoskeleton structure and structural and functional features of its membrane are observed in the article. Data about the role of different components of erythrocyte membrane in their interaction with extracellular matrix are given. Main typical breaks of structure and function of blood red cells at pathologies of different genesis are shown.

Key words: erythrocyte, membrane, structure and features of membrane, pathology of membrane

ЭРИТРОЦИТ И ЕГО МЕМБРАНА В НОРМЕ

Одним из традиционных подходов патофизиологии, направленной на получение фундаментальных знаний об общих закономерностях и особенностях функционирования клеточных систем при патологии, является использование сравнительного анализа молекулярной организации и функции какой-либо клеточной структуры при болезнях разного генеза. Такая методология позволила определить типовые нарушения мембраны эритроцитов при различных патологических процессах и состояниях. Выбор мембраны эритроцитов в качестве объекта исследования был продиктован тем, что ей присущи общие принципы молекулярной организации плазматических мембран. Поэтому закономерности изменений структуры и функции мембраны эритроцитов с определенной долей коррекции, обусловленной, прежде всего, видовой специфичностью клеток, могут быть экстраполированы на иные мембранные системы. Помимо этого, видимая простота организации эритроцита, как «деградированной» клетки, дает возможность изучать функциональные свойства плазматической мембраны без помех, накладываемых внутриклеточными мембранными образованиями и органеллами [28].

С другой стороны, мембрана эритроцитов имеет ряд специфических черт, определяющих функции этих клеток, связанных со многими патологиями и, часто, имеющие пока неизвестные исследователям предназначение и свойства.

**ЭТАПЫ РАЗВИТИЯ И ОБЩАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ЭРИТРОЦИТОВ**

Эритроцит является высокоспециализированной клеткой организма, основная роль которой состоит в транспорте кислорода. Эритроцит состоит из воды (70 %), гемоглобина (25 %), а так же липидов, сахаров, солей, ферментных белков, в целом на долю которых приходятся остальные 5 %. Содержимое эритроцитов – это жидкость с вязкостью около 7×10^{-3} Па/с., представляющая собой идеальную ньютоновскую жидкость, вязкость которой зависит от концентрации гемоглобина [25].

Нормальный зрелый эритроцит (нормоцит) оксифилен, не содержит ядра и клеточных органелл. В норме популяция эритроцитов стабильна и при физиологических условиях 85 – 97 % эритроцитов человека имеют форму двояковогнутого диска с уплотнениями по краям и центральной впадиной (пеллор), на которую приходится 35 – 55 % его поверхности. Поддержание дисковидной формы обу-

словлено отрицательным осмотическим давлением внутри клетки, состоянием мембраны, стромы эритроцита и работой Na^+ -насоса. Дискаобразная форма характеризуется высоким отношением площади поверхности к объему. В таких условиях молекула гемоглобина находится близко к поверхности, что обеспечивает максимальную скорость газообмена [3, 20, 22, 25].

Эритроциты человека, циркулирующие в кровяном русле, не имеют ДНК и не способны к синтезу РНК. На стадии эритробластов в красных клетках крови содержатся ядро, органеллы и ферментные системы, необходимые для деления клетки, созревания, дифференцировки, различных процессов биосинтеза: синтеза ДНК, РНК, белков, в том числе глобина, синтеза гема, липидов и др. соединений. Необходимая энергия образуется в результате гликолиза, окисления глюкозы в гексозомонофосфатном шунте и путем окислительного фосфорилирования в митохондриях. На стадии нормобласта клетка утрачивает способность к синтезу ДНК и делению, а потом и ядро. После его потери остаются следовые количества мРНК и небольшое количество рибосом, которые сохраняются еще в течение 2–3 суток во время превращения нормобласта в ретикулоцит. Наряду с этими процессами растет количество гемоглобина в клетке. Ретикулоциты — молодые безъядерные клетки, образуются на последнем этапе созревания, предшествующем образованию эритроцита. Ретикулоцит сохраняет способность к синтезу белка (глобина), гема, включению железа в гемоглобин. Он содержит также ферменты, необходимые для образования **de novo пуринов, пиридиннуклеотидов, фосфатидов, возможно липидов**. Ретикулоциты осуществляют расщепление жирных кислот, активный транспорт катионов. В обмене веществ участвуют различные эндо- и экзогенные субстраты, в том числе аминокислоты. Интенсивно утилизируются глутамат, аспартат, превращаясь в ацетил-СоА и CO_2 . Глицин используется для синтеза порфиринов и глобина, в меньшей степени — пуринов. Ретикулоциты характеризуются сложной морфологией — содержат митохондрии, рибосомы, цитоплазматическую сеть. На этой стадии развития клетки функционируют оба пути обмена энергии: путь гликолиза и цикл Кребса, а также гексозомонофосфатный шунт [9, 12].

Последний этап созревания — превращение ретикулоцита в эритроцит продолжается 1–3 суток. При этом происходит полная деградация рибосом, частичное нарушение клеточной мембраны и избирательный распад ключевых ферментов, находящихся в органеллах цитоплазмы. Прекращается большая часть синтетических процессов, нарушается способность к синтезу белка, образованию гема, синтезу липидов; инактивируются флавиновые ферменты и цитохромоксидазы. Цикл трикарбоновых кислот как система не действует, хотя небольшая активность некоторых ферментов (изоцитратдегидрогеназа, фумараза, малатдегидрогеназа) выявляется и в зрелых клетках. В зрелых

эритроцитах окислительного фосфорилирования с участием митохондрий (вследствие их разрушения) не происходит. Потребляется лишь небольшое количество O_2 и выделяется немного CO_2 в пентозофосфатном пути. Эта «деградация», безусловно, направлена на более успешное выполнение эритроцитом своей основной функции — транспорта газов к месту газообмена [12, 34].

В эритроцитах сохраняется способность к синтезу глутатиона, а также к осуществлению конечных этапов синтеза нуклеотидов никотинамиддинуклеотида (NAD) и **никотинамиддинуклеотидфосфата (NADP)**. Основным поставщиком энергии в красной клетке крови является процесс гликолиза глюкозы, поступающей из плазмы, которая также может быть использована для синтеза гликогена как запасного источника энергии. Функции пентозофосфатного пути в зрелых эритроцитах связаны с участием окисленного NADP и появлением его восстановленной формы NADP- H_2 . NADP- H_2 образуется только в гексозомонофосфатном шунте. Основное значение NADP- H_2 в эритроците заключается в поддержании функциональной активности и целостности эритроцитов: восстановление окисленного глутатиона и метгемоглобина в гемоглобин. Однако основную роль в восстановлении метгемоглобина играет **NADH-зависимая метгемоглобинредуктаза**. Она связана с анаэробным расщеплением глюкозы, при котором протекают реакции с участием NAD^+ и образованием NADH. Таким образом, образование метгемоглобина (в норме 1–2 %) в эритроците физиологически оправдано как окислителя коферментов (NADPH и NADH), участвующих в 2-х различных системах — антиокислительной и энергообразующей [6, 9, 12].

Эритроцит в процессе своей жизнедеятельности выполняет множество функций. Многие из них реализуются за счет того, что на мембране эритроцита содержатся рецепторы инсулина, соматотропного гормона, ацетилхолина, катехоламинов, простагландинов, иммуноглобулинов (Fc и C — рецепторы), компонентов комплемента C3b и C4b, **а также рецепторы к лектинам, церулоплазмину** [29, 40].

Основные функции эритроцита:

— *газотранспортная*. Эритроцит переносит кислород, не потребляя его и не расходуя при этом энергии.

— *буферная*. При нормальных пределах рН оксигемоглобин является более сильной кислотой, чем дезоксигемоглобин. Такая разница обусловлена главным образом влиянием кислорода, связанного с железом, на сродство ближайших имидазольных групп гистидина к H^+ . Благодаря этому гемоглобин, освобождаясь в тканях от кислорода приобретает большую способность к связыванию ионов H^+ , а в венозной крови в результате выделения CO_2 тканями происходит накопление в крови этих ионов. При поглощении кислорода в легких происходят обратные процессы. Таким образом, обмен O_2 потенцирует буферный эффект гемоглобина [45].

– *питательная*. Переносит на своей поверхности аминокислоты, холестерин, глюкозу, витамины В₁, В₂, В₆, С, от органов пищеварения к клеткам организма.

– *защитная*. Она реализуется за счет адсорбции на поверхности эритроцитов токсических веществ, ряда вирусов и микробов [1, 48], разрушения медиаторов типа ацетилхолина ацетилхолинэстеразой [13], а также наличия компонентов антиоксидантной системы [48].

– *гуморальная*. Регулирует адаптационные процессы в норме и при патологии [12].

– *участие в гемостазе* [70, 75]. Основными факторами, влияющими на реологические свойства крови являются клеточный и плазменный. Клеточный фактор – это количество и состояние эритроцитов. Клетки крови составляют 45 % ее объема. Они определяют величину гематокрита и вязкость крови. Эластичность, деформируемость и агрегационная активность приводят к образованию монетных столбиков, сладж-синдрому. Эти факторы играют ключевую роль в формировании реологического поведения крови.

– *высокая концентрация в плазме крупномолекулярных белков* (фибриноген и продукты его деградации, IgM, α₂-макроглобулин) усиливают агрегацию эритроцитов и высокомолекулярных веществ (липопротеины), что увеличивает вязкость крови.

– *иммунная* [22, 44]. Эритроциты взаимодействуют с антителами, ЦИК благодаря наличию на мембране Fc-рецепторов к иммуноглобулинам, компонентам комплемента C3b и C4b и большого числа поверхностных антигенов. Адсорбируя ЦИК, эритроциты транспортируют их, и, проходя по сосудам печени и селезенки, отдают клеткам, которые обладают большей avidностью к ЦИК.

– *участие в метаболизме катехоламинов*, ацетилхолина, иммунных комплексов и ряда лекарственных веществ [38, 53].

– *регуляция сосудистого тонуса* [73].

– *детоксикационная*. Участие в утилизации эндогенных альдегидов, образующихся в процессе перекисного окисления липидов, реакциях гликозилирования и при окислении радикалов некоторых свободных аминокислот. При этом в разных метаболических путях образуются разные по структуре и свойствам альдегиды. Наибольшая доля приходится на 4-гидрокси-2,3-ноненаль (4-HNE), который образуется из линолевой кислоты. Альдегиды являются относительно стабильными метаболитами. Они обладают способностью взаимодействовать с белками и нуклеиновыми кислотами, изменяя их функциональные свойства. В утилизации альдегидов принимают участие альдегиддегидрогеназа, альдегидредуктаза и глутатион-S-трансфераза. Однако основной путь их катаболизма – это конъюгация с глутатионом. В эритроцитах утилизируется около 70 % 4-HNE в глутатионтрансферазной реакции [16].

МЕМБРАНА ЭРИТРОЦИТА

Мембрана эритроцита в течение долгого времени представлялась исследователям лишь проницаемой для газов крови оболочкой, отделяющей гемоглобин от плазмы. Однако успехи, достигнутые в мембранологии, позволяют по-иному взглянуть на роль мембраны в работе клетки. Плазматическая мембрана эритроцита – важнейший элемент клетки. Она одновременно является механической оболочкой с регулируемыми физическими свойствами и «диспетчерским пунктом», осуществляющим координацию работы клетки в зависимости от физических и химических сигналов, поступающих к ней в организме [19].

Биологические мембраны эукариотических клеток, включая плазматическую мембрану эритроцита, имеют общие структурные особенности: они представляют собой ансамбли липидных и белковых молекул, удерживаемых вместе с помощью

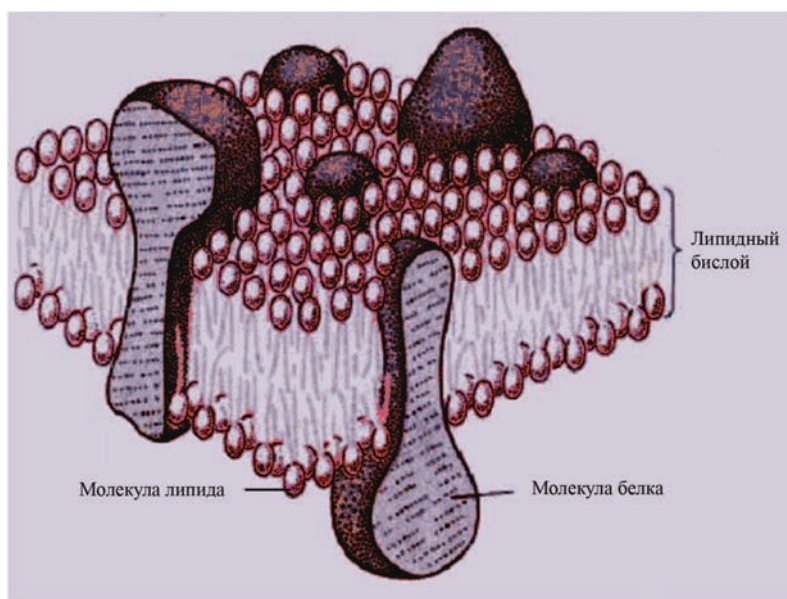


Рис. 1. Схематическое трехмерное изображение небольшого участка клеточной мембраны.

нековалентных взаимодействий. Благодаря этим взаимодействиям поддерживается структурная целостность мембран: Однако сами по себе клеточные мембраны являются подвижными, «текучими» структурами и большинство входящих в их состав молекул способны перемещаться в плоскости мембраны (рис. 1) [6].

Прежде всего, необходимо рассмотреть структуру и организацию главных компонентов всех биологических мембран — липидов, белков, углеводов и их соединений.

ЛИПИДЫ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Согласно современной модели строения мембраны, основной непрерывной ее частью — матриксом — служит полярный липидный бислой. При нормальной температуре матрикс находится в жидком состоянии, что обеспечивается определенным соотношением между насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами в гидрофобных хвостах полярных липидов. Чем больше остатков полиненасыщенных жирных кислот в мембранных липидах, тем более текучий бислой.

В клеточной мембране присутствуют липиды трех типов: *фосфолипиды* (наиболее распространенный тип), *холестерол* и *гликолипиды*. Все они представляют собой *амфипатические* молекулы, т. е. у них есть гидрофильный и гидрофобный концы.

Роль основного компонента мембран играют фосфолипиды, в состав которых входит 2 остатка жирных кислот, содержащих от 16 до 24 атомов углерода, этирифицирующих 1-ю и 2-ю гидроксильные группы глицерола. Один из хвостов, как правило, содержит одну или более *цис*-двойных связей, и он всегда связывается со средней гидроксильной группой, тогда как у другого двойных связей нет. Каждая двойная связь вызывает появление изгиба в хвосте. Различия в длинах хвостов и насыщенности углеводородных цепей имеют большое значение, поскольку именно они влияют на расположение фосфолипидных молекул друг против друга и, следовательно, обуславливают текучесть мембраны.

Третья гидроксильная группа глицерола взаимодействует с фосфорной кислотой, с образованием фосфоглицерола, который может связываться с низкомолекулярными спиртами. Они локализуются в полярной голове молекулы фосфоглицерида и определяют название фосфолипида.

Самые распространенные фосфоглицериды — это фосфатидилэтаноламин и фосфатидилхолин. Также к этому классу соединений относятся фосфатидилсерин (полярная голова которого содержит остаток аминокислоты серина) и фосфатидилинозитол (циклического спирта). При значениях pH близких к 7 спиртовые группы голов могут нести один или несколько электрических зарядов.

Второй важный класс мембранных липидов — сфинголипиды, тоже имеют полярную голову и 2 неполярных хвоста, но не содержат глицерола. Сфинголипиды построены из одного остатка жирной кислоты, одного остатка длинноцепочечного

аминоспирта — сфингозина (или его производного) и одного остатка спирта полярной головы. Сушествует 3 подкласса сфинголипидов: сфингомиелины, цереброзиды и ганглиозиды. Сфингомиелины содержат остаток фосфорной кислоты, другие нет.

Сфингомиелины самые простые и распространенные сфинголипиды. Их характеризует наличие фосфохолина или фосфоэтиламина в полярной голове. По свойствам они близки к фосфоглицеридам, их электрический заряд примерно одинаков.

Цереброзиды не содержат фосфора и не несут электрического заряда, т. к. их головы образованы электронейтральными молекулами, чаще всего остатками сахаров, поэтому их иногда называют гликофинголипидами. Они относятся к группе гликолипидов. Глюкоцереброзиды, полярная голова которых представлена D-галактозой или содержит 2, 3 или 4 остатка сахаров: D-глюкозы, D-галактозы или **N-ацетил-D-галактозамина** присутствуют в наружных слоях мембраны и являются ее важными компонентами.

Наиболее сложные сфинголипиды — ганглиозиды. Их очень крупные полярные головы образованы несколькими остатками сахаров. Для них характерно наличие в крайнем положении одного или нескольких остатков N-ацетилнейраминовой (сиаловой) кислоты, несущей при pH 7.0 отрицательный заряд. Ганглиозиды — важные компоненты, расположенные на поверхности клеточных мембран, специфических рецепторных участков.

Мембраны эритроцитов содержат внешний и внутренний слои фосфолипидов. Наружная сторона обогащена, в основном, фосфатидилхолином (17 %) и сфингомиелином (18 %), тогда как внутренняя сторона содержит больше фосфатидилсерина (18 %) и фосфатидилэтаноламина (7 %) [6].

Поддержание ассиметричного расположения липидов в бислое контролируется рядом ферментов. Mg²⁺-АТФ-зависимая *амино-фосфолипид-транслоказа* (флиппаза или АТФ-аза П), отвечает за локализацию фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина во внутреннем монослое посредством быстрого переноса этих фосфолипидов из наружного слоя против электрохимического градиента. Активность флиппазы ингибируется высокой концентрацией ионов Ca²⁺, ацетилфосфатом и другими псевдосубстратами АТФ-азы П типа. Менее специфичная, Mg²⁺-АТФ-зависимая *фосфолипид-транслоказа*, (флопаза) переносит фосфолипиды из внутреннего монослоя во внешний. Это движение липидов происходит намного медленнее, чем осуществляемое флиппазой. Высокая концентрация ионов Ca²⁺ может привести к нарушению ассиметрии фосфолипидов посредством активации скрамблазы, (инактивированной в физиологических условиях), осуществляющей перемещение фосфолипидов в обоих направлениях.

Спонтанный переворот (флип-флоп) сфинголипидов и фосфоглицеридов в мембране — это процесс медленный, затрудненный неспособностью полярных головок проникать через гидрофобный слой. Он протекает в течение нескольких дней или

недель и не вносит существенного вклада в обмен фосфолипидов между слоями.

Ассиметрия фосфолипидов в мембране Эр выполняет ряд физиологических функций:

1) Хвосты жирных кислот, входящих в состав фосфатидилхолина и сфингомиелина более насыщены, чем те, которые находятся в составе фосфатидилэтаноламина и фосфатидилсерина. В связи с этим асимметрия в распределении полярных голов сопровождается асимметрией распределения углеводородных хвостов, что может привести к тому, что текучесть внутреннего монослоя будет несколько больше, чем внешнего.

2) Известно также, что отрицательно заряженный фосфатидилсерин локализован во внутренней половине бислоя и с ним взаимодействуют регуляторные и структурные белки, такие как протеинкиназа С, аннексин, спектрин. Нарушение ассиметрии приводит к экспонированию фосфатидилсерина на наружной поверхности, что рассматривается как апоптотический фактор, а также к изменению соотношения зарядов на внутренней и внешней сторонах бислоя эритроцита.

3) Ассиметрия фосфолипидов вносит свой вклад в поддержание механических свойств мембраны наряду с цитоскелетом эритроцита и в поддержание формы.

Молекулы холестерина (Хс) (23 – 42 %) разбросаны по внешней стороне так, что их содержание равно примерно одной молекуле на каждую молекулу фосфолипида. Наличие холестерина в бислое способствует вытягиванию насыщенных и ненасыщенных цепей молекул фосфолипидов. Эффект его воздействия наиболее заметен для атомов углерода в положениях 2 – 10, т. е. в области, соответствующей расположению в бислое жесткого остова холестерина – четырех сочлененных его циклов. Для ненасыщенных остатков жирных кислот наличие жестких плоских фрагментов молекулы, холестерол приводит к тому, что двойные связи $-C=C-$ располагаются строго параллельно прямой расположения одинарных CH_2-CH_2- связей, которое возможно только в вытянутых молекулах, т. е. холестерол способствует уплотнению бислоя [37].

Хотя холестерол делает липидный бислой менее текучим, при его высоких концентрациях он предотвращает слипание и кристаллизацию углеводородных цепей. Таким образом, холестерол ингибирует возможные фазовые переходы.

Холестерол уменьшает не только текучесть липидного бислоя, такое же действие он оказывает на его проницаемость для малых водорастворимых молекул и воды, что вероятно обусловлено тремя причинами: 1) холестерол увеличивает толщину гидрофобной зоны мембран; 2) увеличивает вязкость мембраны; 3) влияет на концентрацию полярных веществ в гидрофобной зоне мембраны [46].

Кроме того, холестерол увеличивает упругость и механическую прочность бислоя. Именно благодаря холестеролу мембрана может менять свою форму в ответ на приложенную к ней силу. В отличие от фосфолипидов, холестерол может быстро

перераспределяться между монослоями. Объясняется это тем, что маленькая полярная голова холестерина (гидроксильная группа) относительно легко проходит через центр бислоя, т. е. энергетический барьер для флип-флоп молекул холестерина оказывается низким, и, следовательно, его перераспределение осуществляется быстро [46].

Холестерол соединяется в мембране эритроцитов с фосфолипидами, откладываясь в виде холестеринных кластеров между листками мембраны и может нарушать функцию рецепторов и ферментов. Повышение содержания холестерина способствует уплощению дискоидной формы и сферуляции эритроцитов. При инкубации эритроцитов в среде, богатой холестерином, повышается соотношение холестерол/фосфолипиды с 0,9 до 1,8, деформационная мобильность при этом снижается на 8 %.

Хотя длинноцепочечные жирные кислоты не участвуют в образовании мембраны эритроцита, они, находясь в плазме крови, могут с ней неспецифически связываться, что приводит к нарушению максимальной комплементарности между гидрофобной поверхностью мембранных белков и их липидным окружением. В изоосмотической среде жирные кислоты являются литическими агентами, в гипоосмотической среде они, напротив, предотвращают осмотический лизис клеток, что связано с определенными изменениями структуры мембран [17, 24].

В циркуляторном русле эритроциты в силу своей эластичности принимают самую разнообразную конфигурацию, приспособляясь к форме сосуда или изменяясь под действием текущей плазмы. В связи с этим, одним из основных свойств эритроцита является способность к деформации.

В норме эритроциты обладают высокой деформируемостью, что определяется свойствами мембраны и низкой вязкостью внутриклеточного содержимого.

Известно, что мембрана эритроцита сопротивляется трем видам деформации: растяжению – сжатию, сопровождающемуся изменением площади мембраны (это обусловлено, в том числе, наличием молекул воды в пустотах липидного бислоя), деформации сдвига при постоянной площади и деформации изгиба [17]. Увеличение ее поверхности более чем на 3 % приводит к разрыву [3]. Однако клетки в форме двояковогнутого диска имеют высокое соотношение площади поверхности к объему $S/V = 1,9$, это позволяет эритроциту увеличивать внутренний объем клетки в гипоосмотических условиях почти в 2 раза без потери целостности мембраны. Наличие у эритроцитов фактора текучести липидного бислоя способствует быстрому «залечиванию» мембраны в случае ее незначительного повреждения, как в физиологических условиях, так и в условиях лизиса или окислительного стресса. Это позволило красным клеткам крови быть тем самым незаменимым транспортным средством, которым не обладает никакая другая клетка животных и человека.

МЕМБРАННЫЕ БЕЛКИ

Хотя основные структурные особенности биологической мембраны определяются свойствами липидного бислоя, большинство ее специфических функций осуществляется белками. В обычной плазматической мембране количество белков равно приблизительно половине ее массы. Поскольку размер липидной молекулы весьма мал по сравнению с размерами молекулы белка, можно сделать вывод, что в мембране всегда содержится значительно больше молекул липидов, чем белков. Например, если белки составляют 50 % массы мембраны, то на одну молекулу белка приходится приблизительно 50 липидных молекул.

Многие мембранные белки пронизывают бислой насквозь. Подобно их липидным соседям эти, так называемые *трансмембранные белки*, обладают амфипатическими свойствами: у них есть гидрофобные участки, проходящие через мембрану и взаимодействующие с гидрофобными хвостами липидных молекул внутри бислоя, и гидрофильные участки, обращенные к воде с обеих сторон мембраны (рис. 2, белки 1, 2). Гидрофобность некоторых мембранных белков увеличивается за счет ковалентного присоединения цепи жирной кислоты, которая внедряется в бислой с его цитоплазматической стороны (рис. 2, белок 3). Некоторые внутриклеточные мембранные белки присоединены к бислою только с помощью цепи жирной кислоты, есть и такие поверхностные белки, которые ассоциированы с бислоем за счет ковалентных взаимодействий (через специфический олигосахарид) с фосфатидилинозитолом — минорным фосфолипидом, находящимся во внешнем липидном монослое плазматической мембраны (рис. 2 белок 4).

Некоторые белки, связанные с мембранами, вовсе не взаимодействуют с гидрофобной внутренностью липидного бислоя. Они соединены с той или другой стороной мембранными белками (рис. 2, белок 5). Многие из них высвобождаются из мембраны в сравнительно мягких условиях, например путем экстракции растворами с очень высокой или низкой ионной силой или растворами с крайними значениями pH, которые влияют на взаимодействия белок — белок, но оставляют интактным липидный бислой. Такие белки называют *периферическими мембранными белками*. Напротив, трансмембранные белки, белки, связанные с фосфатидилинозитолом, и некоторые белки, удерживаемые в бислое с помощью цепи жирной кислоты (так же как и другие, крепко связанные белки, которые могут быть высвобождены только после разрушения бислоя детергентами или органическими растворителями) называются *интегральными мембранными белками*.

При изучении белков плазматической мембраны эритроцита человека методом одномерного электрофореза в полиамидном слое в присутствии додецилсульфата натрия удалось идентифицировать 15 главных белков с молекулярными массами от 15 до 250 кД. Фейербанкс с соавторами выделили

7 основных полос, которые были пронумерованы от катода к аноду [14].

Белки полосы 1 и 2 включают отдельные α - и β -субъединицы спектрина (массой 220 и 240 кД соответственно). Спектрин представляет собой длинную фибриллярную молекулу. Его доля в клетке составляет примерно 30 % от массы мембранных белков. Каждая цепь построена из множества β -спиральных сегментов, объединенных в группы по три и связанных между собой неспиральными участками. Такие спектриновые гетеродимеры самопроизвольно агрегируют (голова к голове), образуя тетрамеры длиной до 200 нм. Концы пяти или шести тетрамеров соединяются между собой, связываясь с короткими активными филаментами актина, содержащего от 12 до 17 мономеров и с белком *полосы 4.1*, в так называемый «узловой комплекс» (рис. 3). Таким образом, образуется гибкая сетеподобная структура на цитоплазматической поверхности мембраны. Именно цитоскелет, в основу которого входит спектрин, позволяет эритроцитам противостоять давлению на мембрану при прохождении через узкие капилляры. При наследственной аномалии спектрина эритроциты имеют сферическую (а не двояковогнутую) форму и повышенную хрупкость. Степень выраженности гемолиза эритроцитов прямо пропорциональна степени недостаточности спектрина [14].

На внутренней поверхности цитоплазматической мембраны можно обнаружить еще один комплекс связывания цитоскелета с белками мембраны. Так при связывании радиоактивно меченного спектрина с мембранами эритроцитов, из которых предварительно был удален спектрин и некоторые другие периферические белки, удалось идентифицировать белок, ответственный за соединение спектринового цитоскелета с плазматической мембраной, названный анкирином (соответствует полосам 2.1, 2.2 и 2.3). Он связывал как α -спектрин, так и цитоплазматический домен трансмембранного белка *полосы 3*. При этом сильно уменьшалась скорость диффузии молекул белка *полосы 3* в липидном бислое [14, 15].

Цитоскелет на основе спектрина может соединяться с мембраной и через другие белки. Было показано, что цитоскелетный белок *полосы 4.1* (который связывает спектрин и актин) соединяется с цитоплазматическим доменом гликофорина, другого трансмембранного белка эритроцитов (рис. 3) [14].

Ранее упомянутый белок *полосы 3* (его еще называют анионтранспортным белком) — один из основных интегральных белков эритроцитарной мембраны и является по своей природе полифункциональным. Это гликопротеид с молекулярной массой 90 кД, состоит из 2-х доменов. Установлено, что цитоплазматический домен (Мм 48 кД) служит центром организации мембраны этих клеток (рис. 3). Он функционирует преимущественно как сайт связывания мембраносвязанных белков, среди которых анкирин, белки *полосы 4.2*, *4.1*, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, фосфофруктокиназа,

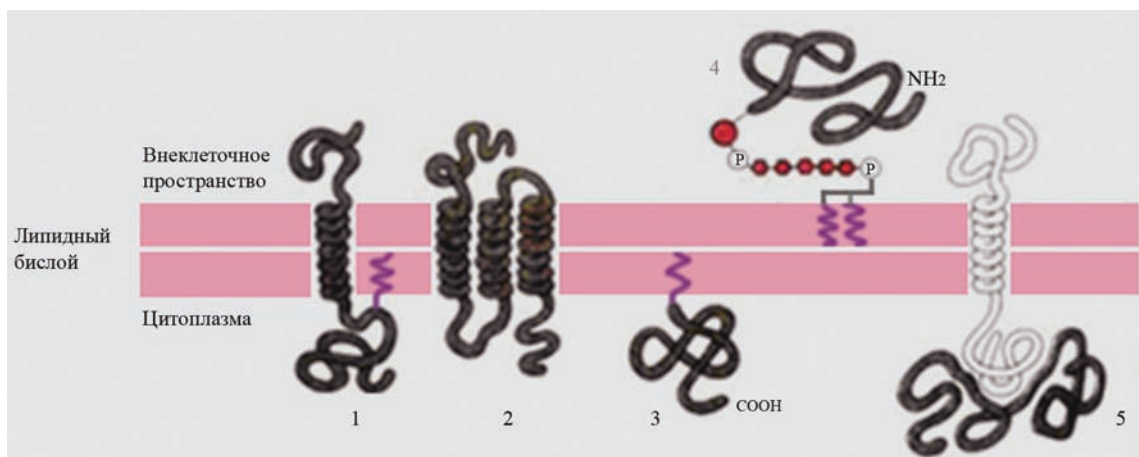


Рис. 2. Пять способов ассоциации мембранных белков с липидным бислоем. Трансмембранные белки пронизывают бислоем в виде одиночной б-спирали (1) или нескольких б-спиралей (2). Некоторые из таких белков (1 и 2) имеют присоединенную ковалентно цепь жирной кислоты, погруженную в цитоплазматический монослой (1). Другие мембранные белки ассоциируют с бислоем только за счет ковалентно присоединенного к ним липида, либо цепи жирной кислоты, погруженной в цитоплазматический монослой (3), либо, гораздо реже, через фосфолипид фосфатидилинозитол, погруженный во внешний монослой и соединенный с белком через олигосахарид (4). Наконец, многие белки ассоциируют с мембраной только благодаря нековалентным взаимодействиям с другими мембранными белками (5).

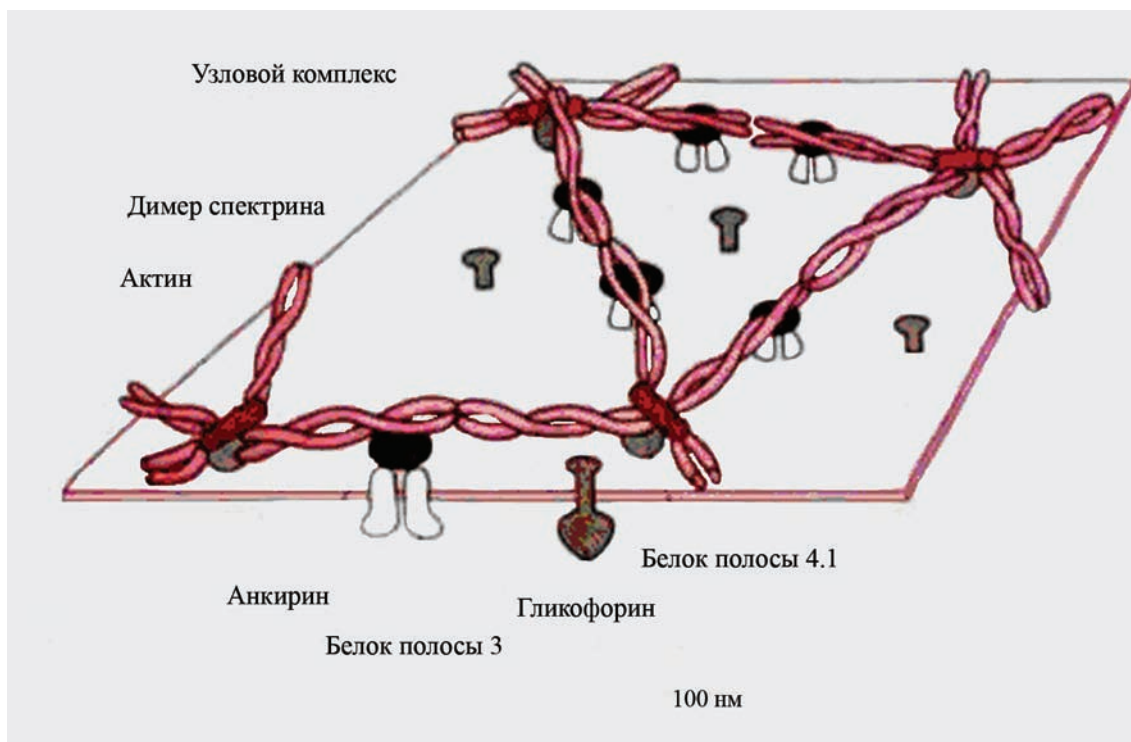


Рис. 3. Схематическое изображение цитоскелета (на основе спектрина) на цитоплазматической поверхности мембраны эритроцитов человека. Структура, представленная на рисунке, вытекает главным образом из исследований взаимодействия очищенных белков *in vitro*. Спектриновые димеры ассоциируют «голова к голове», образуя тетрамеры, которые объединяются с помощью коротких актиновых филаментов (содержащих 15 мономеров) и белка полосы 4.1 (а два или три других белка не показаны), в результате чего образуется сеть.

альдолаза, гемоглобин, гемихромы, протеинтирозинкиназа. Эти взаимодействия цитоплазматического домена с различными белками обеспечивают поддержание структурно-функционального состояния эритроцитов от контроля растяжимости клеточной мембраны и формы клетки до регуляции метаболизма глюкозы и транспорта ионов [2, 14].

Таким образом, белок полосы 3 формирует структурный базис для организации белковых ан-

самблей, передающих сигналы из внешней среды внутрь клетки, а также модулирующих транспортные функции и механические свойства мембраны эритроцитов.

Не весь белок полосы 3 взаимодействует с анкирином, т. к. он способен латерально перемещаться по внутренней поверхности мембраны, образовывать кластеры и осуществлять транспортные функции.

Белок полосы 4.9 — центральный компонент цитоскелета. Выделен в виде тримера с массой 145 кД. Стабилизирует взаимодействие спектрина с актином и влияет на полимеризацию последнего. Это фосфопротеин. Белок присутствует в Эр в количествах примерно равных количеству спектрина. Показано, что полипептид этого белка может взаимодействовать с актиновыми нитями, снижая скорость полимеризации актина и, возможно, стабилизируя короткие актиновые нити в эритроцитах. Предполагается, что цитоскелет, и в первую очередь, спектрин, актин и белки полосы 4.1 и 4.9, ответственны за механические и морфологические свойства эритроцитов [8, 14].

В 1985 г. было показано, что еще одним компонентом цитоскелета Эр является миозин. Белок состоит из тяжелой цепи с Мм 200 кД и из 2-х легких цепей с Мм 26 и 19,5 кД. В эритроцитах присутствует примерно в количестве 6000 молекул на 1 клетку, т. е. на 1 молекулу миозина приходится около 80 мономеров актина [14].

В состав белков полосы 4.5 входят интегральные белки — переносчики нуклеозидов и глюкозы через эритроцитарную мембрану. Основная часть белков этой полосы — транспортеры глюкозы, так называемые **D-гексозная пермеаза Мм 45 кД**. Константа Михаэлиса (Км) для транспорта глюкозы в эритроциты составляет 1,5 ммоль/л, а поскольку концентрация глюкозы в крови человека составляет 4–6 ммоль/л, поглощение ее эритроцитами происходит практически с максимальной скоростью. Специфичность пермеазы проявляется в том, что L-изомер глюкозы почти не транспортируется в эритроцит, в отличие от D-галактозы и D-маннозы, но их концентрация в крови невелика. Оказавшись внутри клетки, глюкоза фосфорилируется и не способна покинуть клетку [39].

Белок полосы 6 — глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФД) (Мм 35 кД) — располагается на цитоплазматическом домене анионтранспортного белка, в составе мультиферментного комплекса и связана с ним исключительно электростатическими силами. Данный белок является ферментом гликолиза и принимает участие в регуляции окисления гемоглобина [42]. При дефиците ГАФД эритроциты склонны к гемолизу, что связано с качественными и количественными сдвигами полипептидного состава мембран [2].

Полоса 8 представлена пептидной частью фермента глутатион-S-трансферазы (Мм 23 кД). Взаимосвязь белка полосы 8 с мембраной является Ca^{2+} -зависимой [14].

Полосу 9 на электрофореграмме составляет белок — глобин, который является частью мембрансвязанного гемоглобина.

Как уже отмечалось ранее, цитоплазматический белок полосы 3, включающий около 380 аминокислотных остатков, локализован в цитоплазме и играет важную роль в поддержании формы эритроцита и его метаболизме. **N-концевая последовательность** цитоплазматического домена богата аминокислотными остатками кислого характера.

На этом участке находятся центры связывания гидролитических ферментов: глицеральдегид-6-фосфатдегидрогеназы, альдолазы, каталазы, гемоглобина и гемихрома. Т. о. цитоплазматический домен анионтранспортного белка и является местом локализации мембрансвязанного гемоглобина [14]. 2,3-дифосфоглицерат снижает эффективность взаимодействия гемоглобина с белком полосы 3, конкурируя с цитоплазматическим доменом этого белка за один и тот же сайт гемоглобина, что приводит к снижению количества мембрансвязанного гемоглобина [8]. Было показано, что при изучении безгемоглобиновых теней эритроцитов обнаруживается большое количество везикул диаметром примерно 100 нм, что свидетельствует о частичной фрагментации плазматической мембраны эритроцита. В то же время если в мембранах содержится много гемоглобина (в норме = 17,4 мкг/г общего белка мембран) и других белков, обнаруживаемых в примембранных слоях, то фрагментации мембраны не происходит. Имеются и другие доказательства стабилизирующего действия гемоглобина на эритроцитарные мембраны. Например, С. Кнаттону с соавторами удалось получить две фракции эритроцитарных мембран, различающихся содержанием связанного с ним гемоглобина. Ими было показано, что во фракции с большим содержанием связанного гемоглобина разрушение липопротеиновой структуры мембран при их дегидратации происходит намного слабее, чем в случае с фракцией эритроцитарных мембран с малым содержанием связанного гемоглобина. При окислительном стрессе происходит увеличение содержания связанного гемоглобина на мембране.

Еще один белок, входящий в эритроцитарную мембрану — это гликофорин — один из двух главных белков, выступающих на внешней поверхности эритроцитов человека. Он оказался первым мембранным белком, для которого была определена полная аминокислотная последовательность. Гликофорин представляет собой небольшой трансмембранный гликопротеин (131 аминокислотный остаток). Большая часть массы этого белка находится на наружной поверхности мембраны, где локализован и его гидрофильный N-концевой участок. С этой областью белковой молекулы связаны 15 отдельных олигосахаридных боковых цепей, в которых в сумме содержится около 100 сахарных остатков, что составляет примерно 60 % массы молекулы гликопротеина.

Фактически подавляющую часть углеводов клеточной поверхности (включая более 90 % сиаловой кислоты) и, следовательно, большую часть всех отрицательных зарядов клеточной поверхности несут на себе молекулы гликофорина. Гидрофильные C-концевые хвосты этих молекул погружены в цитозоль, а гидрофобный β -спиральный участок, насчитывающий приблизительно 20 аминокислотных остатков, пронизывает липидный бислой.

В клетках красной крови содержится много молекул гликофорина (более 6×10^5), однако, люди, в эритроцитах которых отсутствует большинство

этих молекул, производят впечатление совершенно здоровых. Гликофорин обнаружен только в эритроцитах, но в структурном отношении его можно отнести к общему классу мембранных гликопротеинов, пронизывающих липидный бислой в виде одиночной β -спирали. Различные рецепторы на поверхности клеток принадлежат именно к этому классу белков.

Кроме выше указанных белков, мембрана эритроцита содержит и другие интегральные или периферические белки. На данный момент определено около 100 мембранных белков различного типа. Например, на внутренней поверхности локализуется большинство ферментов гликолиза, причем их последовательность расположения соответствует метаболическим путям, осуществляемым в клетках: 1,3-дифосфоглицерат --- 3-фосфоглицерат --- АТФ и фосфоенолпируват --- пируват --- АТФ и молочная кислота [7, 12]. Ряд белков относится к группе интегральных и осуществляет транспортную функцию.

ТРАНСПОРТНЫЕ БЕЛКИ

Поскольку внутренняя часть липидного бислоя гидрофобная, она представляет собой практически непроницаемый барьер для большинства полярных молекул. Благодаря такому барьеру предотвращается утечка водорастворимого содержимого клеток. Однако из-за наличия подобного барьера клетки оказались вынужденными создать специальные пути для переноса водорастворимых молекул через свои мембраны. Клетки должны получать необходимые питательные вещества и выделять вредные продукты метаболизма. Кроме того, клеткам надо регулировать внутриклеточные концентрации ионов, что подразумевает возможность транспорта определенных ионов в клетку или из клетки. Перенос малых водорастворимых молекул через липидный бислой осуществляется с помощью особых трансмембранных белков, каждый из которых отвечает за транспортировку определенной молекулы или группы родственных молекул [6, 17].

Избирательная проницаемость плазматической мембраны в сочетании с активным транспортом через нее создают значительные различия в ионном составе цитозоля и внеклеточной жидкости. Это позволяет клеточным мембранам запасать потенциальную энергию в виде градиентов концентраций ионов.

Трансмембранные ионные градиенты используются для осуществления различных транспортных процессов.

Необходимо отметить, что ряд молекул может диффундировать через липидный слой без помощи транспортных белков. Скорости, с которыми различные молекулы проходят через такой бислой, очень сильно варьируют в зависимости от размера молекулы и ее относительной растворимости в жирах. В общем случае, чем меньше молекула и чем более она «жирорастворима» (т. е. более гидрофобная, или неполярная), тем быстрее она

будет диффундировать. *Малые неполярные молекулы*, такие как O_2 , легко растворяются в липидных бислоях и вследствие этого быстро диффундируют через них. *Незаряженные полярные молекулы* также диффундируют с большой скоростью, если они достаточно малы. Например, CO_2 , NO , H_2O_2 , NH_3 , этанол и мочевины проходят через бислой быстро, глицерол — медленнее, а глюкоза едва ли вообще способна пройти сквозь бислой. Весьма важно то, что вода диффундирует через липидный бислой очень быстро, несмотря на то, что молекулы воды относительно нерастворимы в жирах. Это обусловлено тем, что ее молекулы малы и незаряженные [17]. Однако в последние десятилетия выяснилось, что проникновение выше указанных молекул в значительной степени происходит через белковые каналы эритроцитарной мембраны (см. ниже).

За перенос различных полярных молекул, таких, как сахара, аминокислоты, нуклеотиды и многие другие метаболиты, через клеточные мембраны ответственны специфические белки, называемые *мембранными транспортными белками*. Они обнаруживаются во всех типах биологических мембран и могут сильно отличаться друг от друга.

Все мембранные транспортные белки оказались трансмембранными белками, полипептидная цепь которых пересекает липидный бислой несколько раз. Эти белки обеспечивают перенос специфических веществ через мембрану без непосредственного контакта с гидрофобной внутренней частью липидного бислоя, формируя в нем сквозные проходы.

Существуют два основных класса мембранных транспортных белков: *белки-переносчики* и *каналообразующие белки*. Белки-переносчики (называемые также *переносчиками* или *транспортными белками*) связывают молекулу переносимого вещества, что приводит к их конформационным изменениям и как результат к переносу этой молекулы через мембрану. Напротив, каналообразующие белки (или белки-каналы) формируют заполненные водой поры, пронизывающие липидный бислой. Когда эти поры открыты, молекулы специфических веществ (обычно неорганические ионы подходящего размера и заряда) проходят сквозь них и, следовательно, через мембрану.

Все каналообразующие белки и многие белки-переносчики позволяют растворенным веществам проходить через мембраны только пассивно. Этот процесс называется *пассивным транспортом* (или *облегченной диффузией*). Если молекула транспортируемого вещества не имеет заряда, то направление пассивного транспорта определяется только разностью концентраций этого вещества по обеим сторонам мембраны (*градиентом концентрации*). Однако если молекула заряжена, то на ее транспорт влияют как градиент концентрации, так и разница электрических потенциалов на сторонах мембраны (*мембранный потенциал*). Вместе концентрационный и электрический градиенты составляют *электрохимический градиент*. Фактически в любой плазматической мембране есть гра-

диент электрического поля. При этом внутренняя сторона мембраны обычно заряжена отрицательно по отношению к наружной. Такой потенциал облегчает проникновение в клетку положительно заряженных ионов, но препятствует прохождению внутрь ионов, заряженных отрицательно.

Имеется несколько молекулярных механизмов, участвующих в регуляции поля в мембране эритроцита — адсорбция — десорбция гемоглобина на мембране, усиление кислотных свойств гемоглобина при оксигенации, взаимные превращения молекул угольной кислоты и двуокиси углерода и приближение к мембране отрицательно заряженных участков гликофорина при входе эритроцита в капилляр. Дезоксигемоглобин образует на мембране сплошной слой такой толщины, что он принимает на себя около половины трансмембранной разности потенциалов, тем самым вдвое ослабляя поле в мембране. Возникший при оксигенации оксигемоглобин с нее десорбируется, и поле в ней соответственно усиливается. Протоны, появившиеся в цитоплазме в результате усиления кислотных свойств гемоглобина при оксигенации, выходят из эритроцита, увеличивая отрицательный заряд цитоплазмы, и, тем самым, усиливая поле в мембране. В капиллярах альвеол в эритроциты входят анионы угольной кислоты. Карбоангидраза превращает их в нейтральные молекулы CO_2 , которые выходят в плазму крови и оттуда удаляются из организма. А внесенные анионами отрицательные заряды увеличивают заряд цитоплазмы, а значит, и поле в мембране. Все это приводит к уменьшению проницаемости мембраны. В капиллярах тканей — потребителей кислорода эти процессы текут в обратную сторону. Но они начинаются лишь после ослабления поля в мембране, вследствие прижатия к ней отрицательно заряженных нитей встроенного в нее с внешней стороны неглобулярного белка гликофорина и соответствующего увеличения проницаемости мембраны [33].

Клеткам также необходимы транспортные белки, активно перекачивающие определенные растворенные вещества против их электрохимических градиентов. Этот процесс, известный под названием *активного транспорта*, всегда осуществляется белками-переносчиками. При активном транспорте перекачивающая активность переносчиков является направленной, поскольку она тесно связана с источником метаболической энергии, таким, как гидролиз АТФ или градиент ионов.

Процесс, с помощью которого белки-переносчики специфически связывают и транспортируют растворенные молекулы через липидный бислой, напоминает ферментативную реакцию, а транспортные белки выступают как особые, связанные с мембраной, ферменты. В белках-переносчиках всех типов имеются участки связывания для транспортируемой молекулы (субстрата). Когда белок насыщен (т. е. когда все участки связывания заняты), скорость транспорта максимальна. Эта скорость, обозначаемая V_{max} , является характеристикой данного белка-переносчика.

Кроме того, каждый белок-переносчик имеет характерную для него константу связывания K_m , равную концентрации транспортируемого вещества, при которой скорость транспорта составляет половину ее максимальной величины. Связывание растворенного вещества может быть специфически блокировано как конкурентными ингибиторами (конкурирующими за тот же участок связывания), так и неконкурентными ингибиторами (связывающимися где-нибудь в другом месте и специфически влияющими на структуру переносчика). Однако в данном случае аналогия с реакцией фермент — субстрат неполная, поскольку транспортируемые вещества обычно не модифицируются ковалентно белками-переносчиками.

Некоторые транспортные белки просто переносят какое-либо растворенное вещество с одной стороны мембраны на другую. Такой простой перенос называется *унипортом*. Другие белки функционируют как *котранспортные системы*, в которых перенос одного растворенного вещества зависит от одновременного или последовательного переноса другого вещества либо в том же направлении (симпорт), либо в противоположном (*антипорт*).

Белковые каналы плазматической мембраны обладают *ионной селективностью*, т. е. позволяют диффундировать через них только ионам определенного вида. По-видимому, поры должны быть достаточно узкими, чтобы ионы находились в тесном контакте с их стенками и чтобы проходить могли только те из них, которые имеют подходящий размер и заряд. Скорее всего, на этом пути ионам приходится терять большинство или даже все ассоциированные с ними молекулы воды. Эти два обстоятельства накладывают ограничение на скорость диффузии через канал и делают его селективным фильтром, допускающим прохождение только ионов определенного типа. Таким образом, при увеличении концентрации ионов их поток через канал возрастает пропорционально, но лишь до определенного предела. К таким каналам относятся Na^+/K^+ -канал, $\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ -канал и Na^+/H^+ -канал. На их долю приходится не более 5–10 % от общего потока одно- или двухвалентных катионов.

Ранее говорилось о самопроизвольной диффузии молекул воды через плазматическую мембрану эритроцита, но производительность этого процесса не объясняет высокую скорость пропускания воды. Это возможно, главным образом, благодаря аквапоринам (водным каналам) — АQP.

Открытие белка CHIP28 с M_r 28 Кд (теперь известного как аквапорин 1 или АQP1) был решающим моментом в изучении клеточных водных каналов. С тех пор аквапориноподобные белки были найдены во всех живых организмах, только у человека по крайней мере 11 разных аквапориноподобных белков, многие из которых имеют отношение к различным заболеваниям. Основываясь на строении 3D-структуры АQP1, была предложена модель, объясняющая высокую скорость пропускания и высокую селективность водных каналов, а также способность АQP1 препятствовать проникновению

протонов. Суть модели состоит в том, что архитектура каналов позволяет проходить молекулам воды обособленной единицей (отдельной группой), и положительно заряженные функциональные группы в каналах сдерживают проникновение H_3O^+ . Более того, локальное электростатическое поле, генерируемое изменением белковой полярности в середине канала, заставляет молекулы воды вращаться таким образом, что их дипольные моменты ориентируются в противоположных направлениях в верхней и нижней половинах канала. Эта переориентация предотвращает формирование непрерывной цепочки водородно-связанных молекул воды через канал и, тем самым, блокирует прохождение протонов посредством прыжкового механизма.

К настоящему моменту установлено, что аквапорины, количество которых достаточно велико (2×10^5 мол/кл.) в мембране эритроцита [52], принимают участие в транспорте многих незаряженных молекул: CO_2 , O_2 , H_2O_2 , NH_3 и некоторых других. Вопреки первоначальному предположению о транспорте молекулы H_2O и O_2 через одну и ту же пору в аквапорине, оказалось, что основной путь молекулы O_2 через тетрамер AQP1 представлен центральной 17 порой. Проникновение же молекулы кислорода через водную пору затруднено из-за сильных водородных связей между белком и молекулами воды [68]. Имеются доказательства, что AQP1 является наиболее важным каналом транспорта CO_2 через мембрану эритроцита человека [59].

Выше упоминаемый белок полосы 3 выполняет анионтранспортную функцию, осуществляемую терминальным доменом (Мм 50 кД), который взаимодействует с мембраносвязанным доменом и, таким образом, ориентирован преимущественно по направлению к липидному бислою. Этот сегмент через свой кислый участок, локализованный внутри домена, связывается с основным аминоконцевым участком карбоангидразы (КАИ), формируя метаболон, который переносит HCO_3^- с цитоплазматической стороны белка полосы 3 во внешний слой мембраны, т. е. участвуя в транспорте CO_2 от тканей к легким [2].

Все выше указанные каналы работают по градиенту концентрации, но в клетках существуют белки-переносчики, связанные с источником энергии, например с гидролизом АТФ. Замечательным примером белка-переносчика, использующего энергию гидролиза АТФ для перекачки ионов, служит Na^+/K^+ -насос, играющий решающую роль в образовании мембранного потенциала на плазматических мембранах эритроцитов (так называемая Na^+/K^+ -АТФаза).

Концентрация ионов K^+ внутри клетки, как правило, в 10–20 раз выше, чем снаружи. Для ионов Na^+ — картина прямо противоположная. Такая разница в концентрациях ионов обеспечивается работой Na^+/K^+ -насоса. Этот насос работает по принципу антипорта, активно перекачивая Na^+ из клеток, а K^+ внутрь клеток против их крутых электрохимических градиентов. Градиент Na^+ ,

создаваемый насосом, регулирует объем клеток за счет осмотических эффектов. Он также используется для осуществления транспорта сахаров и аминокислот в клетку. Почти треть всей энергии, необходимой для жизнедеятельности животной клетки, тратится именно на работу этого насоса.

Гидролиз АТФ обеспечивает насос необходимой для работы энергией. При гидролизе каждой молекулы АТФ три иона натрия выкачиваются наружу и два иона калия накачиваются внутрь. В связи с этим, Na^+/K^+ -АТФаза оказывается «электрогенной». Это значит, что через мембрану течет ток, создающий электрический потенциал с отрицательным значением во внутренней части клетки по отношению к ее наружной поверхности. Однако этот эффект насоса дает не более 10 % вклада в мембранный потенциал. Остальные 90 % потенциала создаются работой насоса косвенным образом и связаны с различной концентрацией ионов K^+ по разные стороны мембраны. Повышенные концентрации калия внутри клетки необходимы для сбалансирования большого суммарного отрицательного заряда, обусловленного клеточными фиксированными анионами — множеством отрицательно заряженных органических молекул, находящихся внутри клетки и не способных проникать через плазматическую мембрану.

Na^+/K^+ -АТФаза играет непосредственную роль в регуляции клеточного объема. Она контролирует концентрацию растворов внутри клетки, а следовательно, и осмотические силы, приводящие к разбуханию или сжатию клетки. Растворы внутри клетки (включая фиксированные анионы и сопутствующие катионы, необходимые для уравнивания их заряда) поддерживают большой осмотический градиент, насыщающий воду внутри клетки. В животных клетках этот эффект нейтрализуется высокими концентрациями неорганических ионов (главным образом Na^+ и Cl^-), находящихся во внеклеточной жидкости. Na^+/K^+ -АТФаза поддерживает осмотическое равновесие, выкачивая втекающие по ступенчатому градиенту ионы Na^+ из клетки; Cl^- удерживаются вне клетки благодаря мембранному потенциалу [48].

Важная роль Na^+/K^+ -АТФазы в регуляции клеточного объема подтверждается тем фактом, что при обработке животных клеток убаином, ингибирующим натриево-калиевую АТФазу, они разбухают и разрываются.

Концентрация ионов Ca^{2+} в цитозоле поддерживается на гораздо более низком уровне ($\sim 10^{-7}$ М) по сравнению с его концентрацией снаружи клетки ($\sim 10^{-3}$ М). Даже небольшой приток Ca^{2+} извне значительно увеличивает концентрацию свободного Ca^{2+} в цитозоле, а поток ионов кальция, устремляющийся по ступенчатому градиенту в ответ на внешние сигналы — один из способов передачи таких сигналов через плазматическую мембрану. Градиент Ca^{2+} частично поддерживается с помощью существующих в плазматической мембране Ca^{2+} -насосов, активно выводящих кальций из клетки. Известно, что один из таких насосов явля-

ется АТФазой, а другой работает как антипорт, обусловленный электрохимическим градиентом Na^+ .

Активность Ca^{2+} -АТФазы контролируется целым рядом регуляторов: кальмодулином, кислыми фосфолипидами (в частности фосфатидилинозитолами, локализующимися преимущественно во внешнем слое мембраны), фосфорилированием под действием протеинкиназ А и С и протеолизом под действием кальпаина.

Концентрация свободного кальция в клетке, как и концентрация АТФ, относится к числу важнейших гемостатических констант. В качестве регулятора внеклеточных процессов выступает не свободный ион Ca^{2+} , а его комплекс с внутриклеточным белком — кальмодулином. Этот белок обладает исключительным сродством к кальцию. Кальмодулин (Мм 16,7 кД) способен обратимо связываться с мембранными структурами клетки. Молекула обладает высокой конформационной лабильностью. Действие кальмодулина связано с обеспечением кальциевой регуляции работы многих ферментов, при этом происходит и увеличение чувствительности к нему Ca^{2+} — транспортной системы. Присутствие этого белка в мембране эритроцита уменьшает K_a ионных центров Ca^{2+} -насоса для ионов Ca^{2+} примерно в 30 раз, одновременно увеличивая максимальную скорость его работы. При физиологических концентрациях Ca^{2+} и кальмодулина лишь около половины молекул Ca^{2+} -насоса находится в комплексе с кальмодулином. Увеличение концентрации Ca^{2+} внутри эритроцита приводит к насыщению центров связывания этого иона на молекулах кальмодулина, что повышает сродство последнего к Ca^{2+} -наосу. Когда 3 из 4-х Ca^{2+} -связывающих центра кальмодулина заняты Ca^{2+} , достигается максимальное сродство. Таким образом, повышение концентрации Ca^{2+} в цитоплазме кооперативно стимулирует образование комплекса кальмодулин — Ca^{2+} -насос и активизирует работу последнего [7, 35].

Величина максимальной активности Са-АТФазы важна для толерантности эритроцитов к увеличению скорости входа Ca^{2+} . Деформация эритроцита, которая происходит при их циркуляции в кровяном русле, вызывает сильное увеличение проницаемости для ионов Ca^{2+} . Эти скачки проницаемости могут привести к росту цитозольной концентрации Ca^{2+} до токсичных значений (кальциевая перегрузка) и нарушению функции красной клетки крови (избыток Ca^{2+} внутри клетки также может быть индуцирован H_2O_2 , окисленным глутатионом, никотинамиддинуклеотидом, что инициирует, посредством ферментов, повреждение или модификацию жизненно важных молекул. Так кальпаины — Ca^{2+} -зависимые протеиназы разрушают цитоскелет, расщепляя спектрин, промежуточные филаменты и т. д.). К счастью эта перегрузка является кратковременной, и только при старении Эр проявляется меньшая активность Ca^{2+} -АТФазы, кальмодулина и белкового ингибитора, что приводит к уменьшению скорости транспорта Ca^{2+} как в клетку, так и во вне [35].

Существуют трасмиттер-зависимые ионные каналы (нейрорецепторы), приспособленные для превращения внеклеточных химических сигналов в электрические сигналы. Они изменяют проницаемость мембраны и, следовательно, влияют на мембранный потенциал. Кроме характерной ионной селективности каждый трасмиттер-зависимый канал обладает высокоспецифичным участком связывания своего нейротрансмиттера.

Примером трасмиттер-зависимого канала может служить *ацетилхолиновый рецептор* клеток. Этот канал временно открывается при действии ацетилхолина, нейротрансмиттера, высвобождаемого из нервного окончания. В эритроците было обнаружено наличие на поверхности мембраны ацетилхолинэстеразы, фермента, который отщепляет ацетилхолин от нейрорецептора (говорит ли это о наличии самого рецептора неизвестно, можно предположить, что ретикулоциты, как полноценные клетки имели рецепторы на поверхности мембраны и возможность ответа при их «раздражении», у зрелых же эритроцитов наличие тех или иных рецепторов или их компонентов говорит нам только лишь как об остаточных явлениях).

Ацетилхолин в насыщающих концентрациях вызывает конформационные изменения мембранной ацетилхолинэстеразы (которая локализована на внешней стороне мембраны эритроцита и может избирательно связываться с анионтранспортным белком полосы 3), что в свою очередь оказывает влияние на пространственную организацию других компонентов анионного канала. Возможно, что мембранно-конформационный эффект ацетилхолина обеспечивает повышение устойчивости белков — компонентов этого канала к денатурирующим агентам [43].

Установлено наличие на поверхности красной клетки крови β_2 -адренорецепторов, через которые осуществляется регуляция активности аденилатциклазы, текучести мембраны, ее осмостойкости и т. д. [27, 42].

Адренорецепторы — это белки наружной клеточной мембраны, которые распознают и связывают адреналин, норадреналин и синтетические аналоги катехоламинов и опосредуют их физиологическое и фармакологическое действие.

Инсулиновый рецептор представляет собой гетеродимер, состоящий из двух субъединиц (α и β) в конфигурации $\alpha 2 - \beta 2$, связанных между собой дисульфидными мостиками. Обе субъединицы содержат много гликозидных остатков. Удаление сиаловой кислоты и галактозы снижает как способность связывать инсулин, так и активность этого гормона. Каждая из гликопротеиновых субъединиц обладает особой структурой и определенной функцией. α -субъединица (мол. масса 135000) целиком расположена вне клетки, связывание инсулина, вероятно, осуществляется с помощью богатого цистеином домена. β -субъединица (мол. масса 95000) — трансмембранный белок, выполняющий вторую важную функцию рецептора, т. е. преобразование сигнала. Цитоплазматическая часть β -субъединицы

обладает тирозинкиназной активностью и содержит участок аутофосфорилирования. Считается, что и то и другое важно для преобразования сигнала и действия инсулина.

Было установлено, что нормальный эритроцит имеет такие же инсулин-связывающие характеристики, как у жировой, мышечной, печеночной ткани, а физико-химические свойства инсулиновых рецепторов эритроцитов также сходны со свойствами рецепторов инсулинзависимых тканей [5].

Нарушение инсулинрецепторного взаимодействия приводит к угнетению потребления глюкозы в тканях вследствие изменения количества инсулиновых рецепторов и их сродства, что является причиной нарушения синтеза АТФ и угнетения активности Na^+/K^+ -АТФазы [42].

С другой стороны можно сказать, рецепторы на эритроците не предназначены для выполнения своей функции — проведения сигнала внутрь клетки и, в конечном счете, в ядро. Зрелый эритроцит — это безъядерная клетка и поэтому имеющиеся на его поверхности рецепторы могут служить лишь для механического захвата лигандов.

ГЛИКОКАЛИКС И ЕГО ФУНКЦИИ

Наличие обогащенной углеводами периферической зоны на поверхности большинства эукариотических клеток, часто обозначается термином клеточная оболочка или *гликокаликс*.

Имеющиеся на поверхности клеток углеводы представлены в виде олигосахаридных и полисахаридных цепей, ковалентно присоединенных к мембранным белкам (гликопротеины) и к липидам (гликолипиды). Масса углеводов плазматической мембраны колеблется от 2 до 10 % от массы мембраны. Большинство белков плазматической мембраны, выступающих на поверхности клеток, связаны с остатками сахаров. В то же время из десяти липидных молекул в наружном монослое большинства плазматических мембран с углеводами связана менее чем одна молекула. Пятидесятикратное превышение в мембране числа липидных молекул над молекулами белка означает, что липидных молекул, связанных с углеводами в обычной (типичной) мембране больше, чем белковых. Однако такой гликопротеин как гликофорин может иметь большое количество боковых олигосахаридных цепей, а каждая молекула гликолипида — лишь одну. Кроме того, многие плазматические мембраны содержат молекулы интегральных *протеогликанов*. Протеогликаны состоят из длинных полисахаридных цепей, присоединенных к белковому кору, и являются главным образом на внешней стороне клетки как часть внеклеточного матрикса. Однако в некоторых случаях кор интегральных протеогликанов, по-видимому, пронизывает липидный бислой.

Как мы уже знаем, биологические мембраны асимметричны: наружный и внутренний монослой различаются как по липидному составу, так и по белковому. Такая же асимметрия наблюдается и в распределении углеводов; углеводные цепи основной массы гликолипидов, гликопротеинов и

протеогликанов во внутренних и плазматических мембранах локализованы исключительно на той стороне мембраны, которая не контактирует с цитозолем. В плазматических мембранах остатки сахаров выступают на внешнюю поверхность клетки, а во внутренних мембранах они обращены внутрь ограниченного мембраной компартмента. Существуют два различных варианта присоединения олигосахаридов к мембранным гликопротеинам: они могут быть «пришиты» N-связью к остаткам аспарагина в полипептидной цепи или O-связью к остаткам серина или треонина. N-связанные олигосахариды обычно содержат около 12 сахаров и строятся на основе общего ядра, состоящего из остатков маннозы. O-связанные олигосахариды, как правило, короче (длиной около 4 сахарных остатков).

Одним из простейших способов демонстрации присутствия сахаров на клеточной поверхности является использование белков, связывающих углеводы, и названных *лектинами*. Существует ряд белков, обладающих сайтами, узнающими и связывающими специфические последовательности сахарных остатков. Поскольку лектины связываются с гликопротеинами, протеогликанами и гликолипидами, находящимися на поверхности клеток, они широко используются в клеточной биологии в качестве биохимического маркера (по эффективности блокирования активности лектина) для локализации, выделения и определения химической структуры молекул плазматической мембраны, содержащих остатки сахаров [47].

В результате исследований выяснилось, что углеводных структур на поверхности эритроцита не так много. Число рецепторов для различных лектинов колеблется в пределах $2,1 \times 10^5 - 4,9 \times 10^6$ [47].

Методом замороженных сколов обнаружено наличие следующих моносахаридов: маннозы, глюкозы и N-ацетил-D-глюкозамина, входящих в полисахаридные цепи белков полосы 3 и гликофорина А. В составе последнего наблюдаются и остатки нейраминовой (сиаловой) кислоты. Остатки D-галактозы обладают сродством с белком полосы 3 [47].

Углеводы, локализованные в гликокаликсе, отвечают за адгезивные свойства клеток и группы крови, а также являются специфическими рецепторами для связывания различных лигандов, вирусов, антител. Сиаловые кислоты, присутствующие достаточно в большом количестве, определяют отрицательный заряд поверхности эритроцита. Взаимодействие углеводных цепей в гликокаликсе определяется, в основном, электростатическими силами.

Хотя углеводы главным образом присоединены к молекулам, входящим в состав плазматической мембраны, гликокаликс может также содержать гликопротеины и протеогликаны, которые секретируются клетками и затем адсорбируются на клеточной поверхности. Некоторые из этих адсорбированных макромолекул являются компонентами внеклеточного матрикса. Так что вопрос

о том, где кончается плазматическая мембрана и начинается внеклеточный матрикс, можно считать чисто семантическим.

Ясно, что высокая концентрация углеводов на клеточной поверхности должна оказывать существенное влияние на многие функции плазматической мембраны. Структурная сложность некоторых олигосахаридов, а также то, что углеводы располагаются только на поверхности клетки, свидетельствуют о важной роли углеводов в процессах межклеточного узнавания и узнавания между клеткой и матриксом.

АНТИГЕНЫ КРАСНЫХ КЛЕТОК КРОВИ

Большая группа антигенов эритроцитов человека, так называемые *антигены групп крови* локализованы на интегральных белках и полисахаридах эритроцитарной мембраны. К настоящему времени известно более 250 антигенов эритроцитов, которые принято называть группами крови, определены наиболее иммуногенные из них; охарактеризованы биохимические свойства и клонированы кодирующие их гены. Закономерности наследования позволяют объединить известные группы крови в 29 генетически дискретных систем [30].

Групповые вещества по своей химической природе являются либо полисахаридами, либо белками. Гены полисахаридных антигенов (А, В, О, Н, Р, Льюис) кодируют специфические гликозилтрансферазы — ферменты, присоединяющие различные сахара к полисахаридным цепям-предшественникам и формирующие т. о. антигенную структуру [30].

Многие олигосахаридные структуры клеток человека, относящиеся к группам крови являются рецепторами для разнообразных инфицирующих агентов. Так антиген Р служит рецептором для паравируса В19, антигены группы Льюис — для патогенных микроорганизмов: стафилококка, менингита, гонореи и др. [54].

О физиологической роли белков семейства резус известно немного. Известен редкий фенотип резус-нуль, который характеризуется отсутствием всех антигенов резус. У лиц резус-нуль наблюдаются гемолитическая анемия, сфероцитоз, измененная ионная проницаемость эритроцитарной мембраны, и не экспрессируется ряд молекул [55]. Возможно, это связано с тем, что белки комплекса резус-фактора (Rh-комплекса) мембраны эритроцитов участвуют в трансмембранном транспорте CO_2 и NH_3 [71], а также образуют пору для транспорта O_2 [50].

Интересно, что другая белковая канал-формирующая молекула аквапорин 1 наиболее массовая в эритроците, содержит антигенные детерминанты группы крови Colton [53, 62]. К настоящему моменту в мире известно 9 человек с фенотипом Colton-null, сопряженным с потерей функционально-активного белка AQP1 [58]. У этих людей не обнаружено существенных клинических проявлений отсутствия AQP1, за исключением снижения концентрационной функции почек в условиях

водной депривации [56]. Осмотическая водная проницаемость мембран эритроцитов людей с фенотипом Colton-null существенно снижена [57, 60]. Нельзя исключать, что в организме людей с фенотипом Colton-null развиваются изменения, компенсирующие отсутствие AQP1. Возможно, что при недостатке аквапорина 1 повышается уровень экспрессии другого белка или комплекса, участвующего в трансмембранном транспорте кислорода, например Rh-комплекса.

Отсутствие гликопротеина группы Келл вызывает у мужчин синдром Мак-Леода, характеризующийся сниженным сроком жизни эритроцита, акантоцитозом, мышечной дистрофией, неврологическими расстройствами [72].

Ранее упоминавшийся белок гликофорин имеет 4 гомолога А, В, С и D. **Гликофорин А** используется как рецептор вирусом гриппа и некоторыми штаммами малярийного плазмодия [30].

При дефиците гликофоринов С и D изменяются механические свойства мембраны и эритроциты приобретают аномальную форму [61, 72].

К белку полосы 3 присоединен полисахарид, несущий антигены Н, А, В и I, **а также группа крови** Диего. Полное отсутствие молекулы полосы 3 вероятно летально, а фенотип Диего-нуль неизвестен. Возможно, белок 3 несет еще одну важную функцию, это — маркировка старых эритроцитов. Предполагается, что маркерами старения являются продукты деградации белка 3, с которыми связываются физиологические аутоантитела и тем самым стимулируют клиренс старых эритроцитов [64].

Гликопротеид Кидд является транспортером мочевины и выполняет важную функцию по активному перекачиванию мочевины внутрь и наружу клетки, что предотвращает сморщивание эритроцита, когда он проходит через высокие концентрации мочевины в сосудах почки, и его разбухание, когда он покидает ее [65].

Гликопротеин Даффи — это универсальный рецептор ростовых факторов, способный связывать множество различных цитокинов и интерлейкинов (т. е. рецептор хемокинов). Функция этого гликопротеина абсолютно непонятна. Есть гипотеза, согласно которой этот антиген существует на клетках красной крови для адсорбции и удаления из плазмы неволебуемых цитокинов. Гликопротеин Даффи используется в качестве рецептора малярийным паразитом [69, 74].

Антигены — регуляторы комплемента и системы Кромер и Кнопс нужны для защиты эритроцита от повреждения собственным комплементом. Белок DAF (фактор, ускоряющий распад), несущий антигены системы Кромер, относится к семейству белков, которые регулируют каскад реакций компонентов комплемента. DAF прерывает ассоциацию C4b и C3b, предотвращая таким образом комплемент-зависимый лизис эритроцитов [66].

Рецептор комплемента CR1, с которым ассоциированы антигены системы Кнопс, также принадлежит к белкам, регулирующим комплемент. Он связывает компоненты C3b и C3d комплемента,

прерывая как классический, так и альтернативный путь активации комплемента. Считается, что вторая важная функция CR1 состоит в связывании иммунных комплексов, ассоциированных с C4b и C3b, и в удалении их из селезенки и печени [51].

Вопрос о физиологической роли молекул групп крови остается наименее изученным. Наиболее загадочным остается поразительный полиморфизм антигенов групп в популяциях. За исключением системы Даффи, сейчас практически нет объяснения существованию в природе такого разнообразия эритроцитарных фенотипов.

ТИПОВЫЕ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ

В норме около 3 %, а при патологии значительно большее количество эритроцитов, имеют неправильную форму: эхиноцитарную, стоматоцитарную, сфероцитарную (без изменения объема клетки), куполообразную и другие варианты, что обусловлено нарушением внутриклеточного обмена или наличием физико-химических воздействий на эритроцит [22, 25]. Обратимая трансформация формы эритроцита может идти по эхиноцитарному или стоматоцитарному путям, которые могут накладываться друг на друга. Эхиноцитарными агентами являются неполярные или анионные амфифильные соединения (лизозофосфатидилхолин, желчные кислоты, салицилаты, дипиридамола, барбитураты), кальций, нитропруссид натрия, перекись водорода [4, 22].

Стоматоцитоз вызывают — снижение pH и воздействие катионных амфифилов или непроницающих анионов, преинкубация в среде с кальцием или с веществами типа папаверина, ацетилхолина и аминазина. Стоматоцитогенные агенты могут ингибировать кальциевый насос. При этом происходит локальное накопление кальция или меняется взаимодействие мембраны с кальцием, что приводит к локальному эффекту сокращения — расслабления мембраны эритроцита и вызывает трансформацию дискоцита в стоматоцит [22, 25, 48]. Трансформация в сфероцит, который рассматривается как предгемолитическая форма эритроцита, возможна при инкубации в собственной плазме в течение 16 часов при 37 °С, при инкубации с 5% раствором альбумина или раствором фибриногена, при добавлении в среду желчи, жирных кислот и лизозофосфатидилхолина [4, 25]. Необратимое изменение морфологии эритроцита происходит при значительном снижении содержания АТФ, накоплении внутриклеточного кальция, при изменении липидного состава мембраны [22, 48].

Мембрана эритроцита составляет всего 1 % от его веса, хотя роль ее в жизнедеятельности клетки красной крови чрезвычайно велика. Мембрана обеспечивает эластичность эритроцита, прочность, долговечность, способность к растяжению при прохождении через узкие отверстия и каналы, поддерживает внутриклеточный гомеостаз и функциональное состояние эритроцита [36].

Установлены типичные деструктивные изменения эритроцитарной мембраны, независимые от

этиологии повреждающего агента [46, 49]. К числу таковых, прежде всего, относится:

- 1) дефицит энергопродукции и интенсификация процессов свободнорадикального окисления;
- 2) действие фосфолипаз (эндогенных и экзогенных) на бислои;
- 3) механическое растяжение мембраны, обусловленное в условиях живой клетки нарушениями осмотического баланса;
- 4) адсорбция на мембранах определенных полианионов или поликатионов, в частности белков.

Усиление процессов перекисного окисления липидов в клеточных мембранах приводит к уплотнению либо деструкции липидного бислоя, увеличению его вязкости, уменьшению площади белок-липидных контактов, нарушению функциональной активности белков, в том числе ферментов, изменению мембранной проницаемости и поверхностного заряда, нарушению функционального состояния мембрано-рецепторного комплекса. Свободнорадикальное окисление липидных и белковых молекул играет роль триггерного механизма, обеспечивающего доступность белковолипидных компонентов мембраны эритроцита для фосфолипаз и протеаз. Нарушение энергетического обмена стимулирует свободнорадикальные процессы в клетке, а активация свободнорадикального окисления приводит к повреждению мембраны и усугубляет дефицит энергии. Уменьшение содержания макроэргов в эритроцитах сопровождается накоплением в клетках ионов Ca^{2+} , активацией фосфолипаз, гидролизом части фосфолипидов, увеличением проницаемости мембраны. Наряду с активацией ПОЛ накопление в эритроцитах ионов Ca^{2+} — вторичного мессенджера, переносящего сигнал от поверхности внутрь клетки, запускает совокупность процессов, к которым, в частности, относится активация Ca^{2+} -зависимых фосфолипаз и протеаз, приводящих к нарушению структуры мембраны, метаболизма, ионного гомеостаза клетки и в дальнейшем ее формы и функции [10, 21, 23].

Набухание клеток, например, в гипосмотическом растворе приводит к резкому увеличению ионной проницаемости, так же как и адсорбция на мембранах поликатионов и белков [46].

Кроме того, эритроциты проявляют способность к образованию агрегатов, или так называемых монетных столбиков. Агрегация эритроцитов обусловлена двумя основными процессами: непосредственным взаимодействием клеток между собой и статистической вероятностью этого процесса. Основными факторами, определяющими процесс непосредственного взаимодействия красных клеток крови, является, с одной стороны, функциональное состояние клеток (заряд и вязкоэластические свойства мембраны, форма эритроцитов и характер их поверхности), а с другой — характер плазменного окружения (концентрация фибриногена, альбумина, глобулина, ионный состав). Статистическая вероятность взаимодействия эритроцита важна и определяется как показателем гематокрита, так и динамической структурой по-

тока (скоростью сдвига в осевом и пристеночном участках, наличием очагов турбулентности, а также явлениями псевдотурбулентности, обусловленной в частности, неупорядоченными перемещениями эритроцитов в потоке). При нарушении агрегационных свойств эритроцитов ламинарное течение превращается в турбулентное [6, 11].

Остановимся более подробно на изменении основных характеристик эритроцита при патологии.

ДЕФОРМАЦИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Это способность эритроцитов принимать различную конфигурацию под воздействием окружающих факторов. На степень деформации влияют: рН, осмолярность, газовый состав крови, температура, липидный спектр. Деформируемость клетки красной крови оптимальна при рН 7.4. Способность эритроцитов менять форму и проходить через узкие капилляры повышается с увеличением отношения площади (величины) поверхности клетки к ее объему. Эритроциты с аномальной формой характеризуются повышенной резистентностью к деформации [29].

При снижении деформируемости уменьшается контакт мембраны клетки красной крови со стенкой капилляров и ухудшается перенос кислорода между альвеолами и эритроцитами в легких и между эритроцитами и тканями на периферии. Более того, деформация эритроцита также зависит как от вязкости мембраны эритроцита, так и от цитоплазматической вязкости.

Известно, что при насыщении мембраны эритроцита холестерином при дис- и гиперлипидемиях повышается микровязкость липидного бислоя и жесткость мембраны, и как следствие, уменьшается деформируемость эритроцитов, увеличивается скорость их агрегации и снижается активность Na^+/K^+ -АТФазы [5, 46, 29].

У больных холестеринемией обнаружено увеличение микровязкости плазматической мембраны эритроцита, связанное с изменением конформации порфирина и глобина в мембрансвязанном гемоглобине [18]. Авторы предполагают, что это связано с действием NO, проникающим снаружи, преимущественно на примембранный гемоглобин. Было также показано, что при патологии сердца (инфаркт миокарда) меняется структура порфиринового макроцикла гемоглобина, увеличивается размер порфиринового «ядра» и уменьшается спиновое состояние атома железа. Способность гемоглобина связывать кислород снижается [26].

Увеличение микровязкости мембраны в поверхностных слоях установлены у женщин с ожирением, независимо от его типа. При метаболическом синдроме отмечается не только увеличение микровязкости мембраны по всему профилю, но и изменение структуры мембраносвязанных белков [32].

Цитоплазматическая вязкость эритроцита существенно зависит от концентрации гемоглобина. При физиологических концентрациях это влияние невелико, однако при высокой концентрации гемо-

глобина величина цитоплазматической вязкости значительно возрастает, при этом существенно ухудшается деформируемость эритроцита [29]. Низкая способность эритроцитов к деформации наблюдается у новорожденных, что объясняется более высоким содержанием гемоглобина.

Внутриэритроцитарная вязкость зависит и от вида гемоглобина. Так, при серповидно-клеточной анемии для восстановленной формы HbS характерно снижение растворимости в десятки раз и это приводит к образованию геля, имеющего более высокую вязкость [29]. Снижение деформируемости эритроцитов имеет место и при других гемоглобинопатиях [18]. При сердечно-сосудистой патологии было обнаружено также наличие фетального гемоглобина (HbF). Последний отличается от HbA (взрослого) тем, что содержит аминокислоту изолейцин. HbF спонтанно накапливает MeHb значительно быстрее, чем HbA [41].

Высказано предложение, что гетерогенность Hb предотвращает кристаллизацию его в эритроцитах, защищает клетки от деформации и преждевременного разрушения. Разнообразие форм Hb дает определенные преимущества организму в процессе его приспособления к условиям среды [41].

Деформация эритроцита, особенно растяжение мембраны в результате возрастания осмотического давления внутри клетки, сопровождается увеличением проницаемости мембран для одно- и двухвалентных катионов, вероятно, это связано с изменением поверхностного натяжения на границе раздела мембрана/вода [46]. Повышение внутриклеточной концентрации кальция в эритроците приводит к превращению двояковогнутых дисков в эхиноциты [29].

ОБЪЕМ ЭРИТРОЦИТА

Изменение объема эритроцитов сопряжено с изменениями в транспорте основных катионов в клетке. Уменьшение объема клетки сопровождается увеличением концентрации гемоглобина и уровня миграции энергии между молекулами гемоглобина. В результате увеличения локальной концентрации гемоглобина, индуцированного сжатием эритроцитов, меняются содержание мембрано-связанной формы гемоглобина и структура как белковой части молекулы, так и протопорфирина [26].

При гипертонической болезни (первичной гипертонии человека) было выявлено уменьшение среднего объема эритроцитов и изменение формы этих клеток — появление редко встречающихся в норме эритроцитов в виде односторонне выгнутого диска чашевидной формы. Было установлено, что эти изменения формы и объема клеток сопровождаются усилением фосфорилирования белка полосы 4,9 мембранного цитоскелета, играющего определяющую роль в изменениях этих параметров. Фосфорилирование белков цитоскелета вызвано активированием протеинкиназы C эритроцитов. Активирование этого фермента осуществляется через усиление обмена фосфо-

нозитидов плазматической мембраны, в частности, диацилглицерином [31].

При ИБС отмечается повышенное встраивание холестерина в мембрану эритроцита, что приводит к увеличению их размера и изменению формы. В крови здоровых людей содержатся эритроциты размером от 5,5 до 7,9 мкм, при обследовании больных с осложненным атеросклерозом (инфаркт миокарда, нарушение мозгового кровообращения) и больных с тяжелыми формами гиперлипидемии, гиперхолестеринемии диаметр клеток может достигать 10 мкм и более и их доля с увеличением тяжести заболевания растет. Также наблюдается превращение двояковогнутых дисков в сфероциты и эхиноциты [46].

Все описанные выше структурные перестройки в эритроцитарной мембране сопровождаются изменениями активности различных ферментов, определяющих нормальное функционирование эритроцитов, изменением проницаемости мембраны, снижением скорости переноса кислорода, нарушением функции мембранных гликопротеидов. Изменение липид-белковых и белок-белковых взаимодействий вызывает перераспределение зарядов на поверхности эритроцитов и снижение общего заряда клетки, приводя к увеличению агрегации эритроцитов и изменению реологических свойств крови [46].

Необходимо остановиться более подробно на повреждении гликокаликса эритроцита при разных патологиях. Оценить состояние структуры клеточной поверхности позволяет метод количественной цитохимии, основанный на способности образования компонентами гликокаликса (гликопротеины, гликолипиды, кислые мукополисахариды) комплексов с катионным сорбционным красителем — альциановым синим (АС), что вызывает ослабление интенсивности окраски исходного раствора АС. Повышение сорбции АС поверхностью клетки служит показателем увеличения содержания в ней «альциановосиних» комплексов и обусловлено ее частичной деструкцией. Последнее объясняется уменьшением экспрессии антигенов системы АВО и резус, локализованных на поверхности эритроцитов.

В своих исследованиях мы исследовали степень повреждения гликокаликса у пациентов с патологиями разного генеза (табл. 1). Было выявлено, что сорбция АС увеличивалась в пределах от 3 % до 16 % по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты близки с данными литературы, в которых сорбция АС сопоставлялась с

изменением экспрессии мембранных антигенов и коррелировала с функциональными нарушениями, обусловленными повреждением поверхностной структуры эритроцитов.

Известно, что при лейкозах эритроциты имеют редуцированный гликокаликс, вследствие чего изменяется его структурная основа для какой-либо стимуляции мембранных антигенов и рецепторов [13]. Очевидно, это можно сказать в отношении и других патологий.

Результаты хроматографических и спектральных исследований, полученные нами при идентификации метаболических профилей супернатантов и экстрактов разных биообъектов (кровь, слюна, моча), показывают, что основными компонентами их состава являются гликопротеины, гликолипиды и кислые мукополисахариды. В случае эритроцита, они поступают в циркулирующую кровь в результате десорбции с его поверхности. Этот процесс значительно усиливается при патологии вследствие происходящих функциональных изменений, как в мембране эритроцита, так и внутри его. Последнее, вероятно, изменяет статус систем АВО и резус, а также других специализированных рецепторных компонентов поверхности эритроцитов. Весь комплекс десорбированных с гликокаликса соединений, в основном, поверхностно-активные вещества, многие из которых обладают биологической активностью, например, антиоксидантной. Идентифицированный нами состав органической фракции супернатантов эритроцитов включал легко десорбирующиеся с гликокаликса гликопротеины и пептиды, а также комплекс тиол-сульфидных соединений и red-ox формы пиридин-зависимых нуклеотидов, которые могут выполнять роль посредников в межклеточных взаимодействиях и изменять функциональную активность клеток и тканей.

Межклеточный транспорт веществ (транцитоз) имеет отношение к обмену макромолекул между клетками. Например, он обнаруживается при движении белков плазмы через эндотелий капилляров (кровь — эндотелий — клетка или субэндотелиальное пространство). Через межклеточные щелевидные контакты неповрежденного эндотелия капилляров осуществляется быстрый обмен макромолекулами (с Мм менее 40 кД) в обоих направлениях [46].

При развитии атеросклероза, межэндотелиальные щели расширяются, и их поперечный размер увеличивается в диапазоне от 10 до 20 нм, что способствует проникновению липопротеидных частиц

Таблица 1

Изменение величины сорбции алцианового синего (АС) на поверхности эритроцита в зависимости от типа патологии

| Параметр | Контрольная группа | Типы патологии | | | | | |
|---------------|--------------------|-------------------------|-----|----------|-------------------|------------------|--------|
| | | Гипертоническая болезнь | ИБС | ИБС + АГ | Перитонит, сепсис | Ожоговая болезнь | Лейкоз |
| Сорбция АС, % | 0–1 | 3 | 4–5 | 6–7 | 9 | 9–10 | 13–16 |

[46]. Также, на ранних стадиях атеросклероза в эндотелии резко активизируется неспецифический эндоцитоз липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), которые попадают в крупные эндосомы и кавеолы. Процесс интернализации ЛПНП усиливается в результате обогащения апо-Е аргинином, т. е. активация эндоцитоза вызывается возрастанием электростатического взаимодействия положительных зарядов ЛПНП с отрицательно заряженной мембраной эндотелия и накоплением в стенке артерий протеогликанов, способных адсорбировать ЛПНП и ЛПНОП. Длительная активация неспецифического эндоцитоза приводит к патологическим изменениям в клетках и оказывает цитотоксическое действие [63].

В наших исследованиях супернатантов эритроцитов больных гиперхолестеринемией также отмечалось повышенное в 2–3 раза содержание аргинина по сравнению с контролем, что согласуется с ранее изложенным. Наряду с этим, в супернатантах плазмы и суспензиях эритроцитов были обнаружены аномальные гликопротеины, в которых углеводная цепочка оканчивалась не остатком сиаловой кислоты, как в норме, а остатком галактозы. Известно, что в физиологических условиях, гликопротеины с «сиаловыми хвостами» должны разрушаться в лизосомах специализированных клеток плазмалеммы печени, имеющих рецепторы для «узнавания и захвата» нормальных гликопротеинов.

Таким образом, результаты собственных исследований и данные литературы показывают, что структурные изменения поверхности мембраны эритроцитов оказывают значительное влияние на их функциональные свойства.

Комплексное исследование закономерностей молекулярной организации и функционирования эритроцитарной мембраны было выполнено в Томском Сибирском государственном университете. При всем разнообразии соматических заболеваний, полученные данные позволили исследователям прийти к заключению о существовании типовых нарушений структуры и функции красных кровяных клеток, которые обобщены и представлены ниже [49].

И при острых, и при хронических воспалениях выявлялось повышение уровня холестерина в мембране эритроцита, изменение фосфолипидного состава, а также жирно-кислотного спектра фракций фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, нарушение белок-липидных взаимодействий, модифицирование глубокого и поверхностного монослоев мембраны, изменение активности Ca^{2+} – АТФазы, усиление процессов перекисного окисления липидов, снижение активности антиоксидантной системы эритроцитов, а также нарушение поверхностного рельефа и ультраструктуры красных клеток крови.

У больных со злокачественными опухолями (рак легкого, опухоль головы и шеи, рак желудка, толстой и прямой кишки) были обнаружены выраженные нарушения белкового состава (снижение

содержания высомолекулярных полипептидов при одновременном увеличении доли низкомолекулярных белков) и липидного спектра (повышение относительного содержания холестериновой фракции и фракции лизофосфатидилхолина при одновременном снижении количества общих липидов и относительного содержания арахидоновой кислоты во фракциях фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина) мембраны эритроцитов, увеличение вязкости липидного бислоя мембраны, а также изменение параметров функционирования катион-транспортных систем.

Отчетливые нарушения структурно-метаболических свойств мембраны эритроцитов были также установлены при обследовании пациентов, страдающих инсулинзависимым сахарным диабетом. При этом выявились изменения липидной фазы мембраны клеток, увеличение микровязкости глубоких и модификация наружных слоев мембраны, нарушение белок-липидных взаимодействий. Отмечено также уменьшение содержания спектрина при увеличении доли белков полос 7 и 8 в эритроцитарной мембране, модификация поверхностной ультраструктуры эритроцитов.

Подобные изменения структурно-метаболических свойств мембраны эритроцитов были также установлены у пациентов с острой пневмонией, острым сальпингитом, хроническим бронхитом, язвенным колитом, болезнью Крона, атеросклерозом, ИБС, приобретенными пороками сердца, вирусным гепатитом, цитомегаловирусной инфекцией, заболеваниями щитовидной железы, а также с термическими ожогами кожи [49].

Подводя итоги изложенному, нужно говорить об общих закономерностях реагирования клеток красной крови на разнообразные патогенные воздействия, а также о протекании типовых патологических процессов, реализуемых по единому сценарию, практически независимо от первичного инициирующего фактора. Н.В. Рязанцева и В.В. Новицкий [36] рассматривают «однонаправленные изменения мембраны эритроцита с позиций биологической целесообразности эволюционно закрепленной универсальности реагирования циркулирующего эритроцитарного пула на разнообразные патологические воздействия, поскольку предполагает меньшую степень варьирования на действие патогенных факторов».

Знание строения эритроцита и его мембраны в норме и базисных механизмов реагирования клеточных систем при патологии позволит улучшить диагностику заболеваний и разработать оптимальный комплекс лечебных мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адсорбция белка, глюкозы и холестерина на эритроцитах при действии адаптивных гормонов / Р.А. Горяев, З.Ш. Смагулова, С.Г. Маракушко и др. // Научные труды 1 съезда физиологов СНГ. — М., 2005. — С. 15.
2. Аномалии мембранных белков эритроцитов человека при наследственном дефиците глюкозо-6-

фосфатдегидрогеназы / Х.Г. Панахова, Б.Р. Кичибеков, Д.А. Тургиева и др. // Биол. мембраны. — 1995. — Т. 12, вып. 1. — С. 16–21.

3. Бабаев Э.С. О механизме разрушения эритроцитов при наследственном сфероцитозе и подходах к устранению патологического процесса у детей / Э.С. Бабаев // Гематол. и трансфузиол. — 2001. — Т. 43, вып. 1. — С. 34–38.

4. Блохина Т.А. Воздействие некоторых плазменных факторов на реологические характеристики эритроцитов человека / Т.А. Блохина, С.Б. Назаров // Гемореология в микро- и макроциркуляции: мат. междунар. конф. — Ярославль, 2005. — С. 197.

5. Блума Р.К. Исследование структурно-функциональных свойств мембраны эритроцитов с помощью флуоресцентных зондов ДСМ и ДСП-6 / Р.К. Блума, И.Э. Калниня, С.М. Иванова // Биологические мембраны. — 1992. — Т. 9, вып. 5. — С. 453–463.

6. Бойтлер Э. Нарушение метаболизма эритроцитов и гемологическая анемия / Э. Бойтлер; пер. с англ. — М.: Медицина, 1981. — 256 с.

7. Болдырев А.А. Биохимия мембран. Введение в биохимию мембран / А.А. Болдырев. — М.: Высшая школа, 1986. — С. 65.

8. Брызгалова Н.Ю. Роль цитоплазматических структур эритроцита в изменении сродства гемоглобина к кислороду / Н.Ю. Брызгалова, Н.А. Браже, А.И. Юсипович и др. // Биофизика. — 2009. — Т. 54, вып. 3. — С. 442–447.

9. Бышевский А.Ш. Биохимия для врача / А.Ш. Бышевский, О.А. Терсенов. — Екатеринбург: Уральский рабочий, 1994. — 383 с.

10. Владимиров Ю.А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембраны в развитии патологических процессов / Ю.А. Владимиров // Пат. физиол. и экспер. мед. — 1989. — № 4. — С. 7–19.

11. Влияние высокомолекулярного полиэтиленоксида на агрегацию эритроцитов / М.Б. Плотников, М.С. Невзоров, Г.А. Чернышева и др. // Гематол. и трансфузиол. — 1999. — Т. 44, вып. 1. — С. 21–24.

12. Гаврилов О.К. Клетки костного мозга и периферической крови / О.К. Гаврилов, Г.И. Козинец, Н.Б. Черняк. — М.: Медицина, 1985. — 286 с.

13. Глебов Р.Н. Эндцитоз и экзоцитоз / Р.Н. Глебов. — М.: Высшая школа, 1987. — 94 с.

14. Гончарова Е.И. Белки цитоскелета эритроцитов / Е.И. Гончарова, Г.П. Пинаев // Цитология. — 1988. — Т. 30, № 1. — С. 5–18.

15. Громов П.С. Двухмерная карта мембранных белков эритроцитов человека / П.С. Громов, С.Ф. Захаров, С.С. Шишин и др. // Биохимия. — 1988. — Т. 53, вып. 8. — С. 1316–1326.

16. Давыдов В.В. Метаболизм эндогенных альдегидов: участие в реализации повреждающего действия оксидативного стресса и его возрастные аспекты / В.В. Давыдов, А.И. Божков // Биомед. хим. — 2003. — Т. 49, № 4. — С. 374–387.

17. Заводник И.Б. Осмотический и механический лизис эритроцитов человека / И.Б. Заводник, Т.П. Пилецкая, И.И. Степура // Биол. мембраны. — 1995. — Т. 12, № 4. — С. 400–407.

18. Изучение роли плазматической мембраны эритроцитов в формировании гипоксии у больных с хронической сердечной недостаточностью / Г.В. Максимов, О.В. Родненков, О.Г. Лулева и др. // Тер. архив. — 2005. — № 9. — С. 70–73.

19. Казеннов А.М. Структурно-биохимические свойства мембраны безъядерных эритроцитов / А.М. Казеннов, М.Н. Маслова // Физиол. ж. СССР им. И.М. Сеченова. — 1987. — Т. 73, № 12. — С. 1587–1594.

20. Каральник Б.В. Эритроциты, их рецепторы и иммунитет / Б.В. Каральник // Успехи соврем. биол. — 1992. — Т. 112., вып. 1. — С. 53–59.

21. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и при патологии / Ю.Н. Кожевников // Вопросы мед. химии. — 1985. — № 5. — С. 2–7.

22. Козинец Г.И. Клетки крови и костного мозга / Г.И. Козинец. — М.: МИА, 2004. — 203 с.

23. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология / Г.Н. Крыжановский. — М.: Медицина, 2002. — 632 с.

24. Лапшина Е.А. Структурные изменения эритроцитарных мембран в присутствии свободных жирных кислот и их производных / Е.А. Лапшина, И.Б. Заводник // Биол. мембраны. — 1995. — Т. 12, вып. 2. — С. 157–163.

25. Левтов В.А. Реология крови / В.А. Левтов, С.А. Фегириер, Н.Х. Шадрина. — М.: Медицина, 1982. — 270 с.

26. Максимов Г.В. Влияние объема эритроцитов человека и крысы на структуру порфирина гемоглобина / Г.В. Максимов, С.Н. Орлов // Биофизика. — 1993. — Т. 38, вып. 5. — С. 804–808.

27. Манухин Б.Н. Характеристика кинетики взаимодействия β-адренорецепторов эритроцитов крыс со специфическим блокатором-пропранололом / Б.Н. Манухин, Л.А. Нестерова, Е.А. Смурова // Биол. мембраны. — 1994. — Т. 11, вып. 5. — С. 489–495.

28. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, Е.А. Степовая и др. // Бюллетень сибирской медицины. — 2006. — № 2. — С. 62–69.

29. Морозова В.Т. Эритроциты: структура, функции, клинико-диагностическое значения / В.Т. Морозова, С.А. Луговская, М.Е. Почтарь // Клин. лаб. д-ка. — 2007. — № 10. — С. 21–35.

30. Оловников Н.И. Антигены эритроцитов человека / Н.И. Оловников, Т.А. Николаева // Гематол. и трансфузиол. — 2001. — Т. 46, вып. 5. — С. 37–45.

31. Постнов Ю.В. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран / Ю.В. Постнов, С.Н. Орлов. — М.: Медицина, 1987. — 189 с.

32. Потемкин В.В. Метаболические показатели и структура мембран эритроцитов при ожирении и метаболическом синдроме у женщин / В.В. Потемкин, С.Ю. Троицкая, А.Г. Максина // Рос. мед. ж. — 2006. — № 1. — С. 35–38.

33. Регуляция проницаемости мембраны эритроцитов и ее биологическое значение / В.В. Вертяхин, А.Р. Зарицкий, Г.А. Зарицкая и др. // Научная сессия МИФИ – 2006: сб. науч. трудов. – М., 2006. – С. 165–166.
34. Руководство по гематологии / под ред. А.И. Воробьева. – М.: Ньюдиамед, 2005. – Т. 3. – 416 с.
35. Рыбина В.В. Регуляция активности Ca^{2+} -АТФ-азы ионами Ca^{2+} и кальмодулином в эритроцитах человека при различном времени хранения / В.В. Рыбина, И.А. Еленская, Н.П. Каймачников // Биол. мембраны. – 2001. – Т. 18, вып. 4. – С. 287–293.
36. Рязанцева Н.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Успехи физ. наук. – 2004. – Т. 35, № 1. – С. 53–65.
37. Свойства бислоев ненасыщенных фосфолипидов: влияние холестерина / А.Л. Рабинович, В.В. Корнилов, Н.К. Балабаев и др. // Биол. мембраны. – 2007. – Т. 24, № 6. – С. 490–505.
38. Связь пропранолола с белками плазмы и эритроцитами / Е.Т. Гнеушев, Т.Ш. Мамедов, И.А. Гнеушева и др. // Фарм. и токсик. – 1991. – Т. 51, № 1. – С. 55–57.
39. Солодилова М.А. Роль генетических и средовых факторов в детерминации количественного содержания основных белков мембран эритроцитов человека / М.А. Солодилова // Дис. ... канд. бмол. наук. – М., 1999. – 160 с.
40. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. – М.: АстраФармСервис, 2009. – 7-е изд., перераб., испр. и доп. – 1760 с.
41. Стародуб Н.Ф. Гетерогенная система гемоглобина / Н.Ф. Стародуб // Успехи современной биологии. – 1985. – Т. 99, вып. 3. – С. 385–400.
42. Стрюк Р.А. Функциональное состояние адrenoрецепторов у больных метаболическим синдромом / Р.А. Стрюк, А.М. Мкртумян, П.Л. Биндита // Русский мед. ж-л. Эндокринология. – 2008. – Т. 16, № 15. – С. 1007–1012.
43. Трикуленко А.В. Кинетика кислотного лизиса эритроцитов разновозрастных популяций в присутствии лигандов некоторых интегральных белков плазматических мембран / А.В. Трикуленко, У.В. Пинишко // Гематол. и трансфузиол. – 1999. – Т. 44, вып. 1. – С. 16–18.
44. Физиология системы гемостаза / В.П. Балуда, М.В. Балуда, Н.И. Деянов и др. – М.: Медицина, 1995. – 243 с.
45. Физиология человека / под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса. – М.: Мир, 1986. – Т. 3. – 287 с.
46. Холестериноз / Ю.М. Лопухин, А.И. Арчаков, Ю.А. Владимиров и др. – М.: Медицина, 1983. – 352 с.
47. Хомутовский О.А. Электронная гистохимия рецепторов клеточных мембран / О.А. Хомутовский, М.Д. Луцик. – Киев: Наукова думка, 1986. – 166 с.
48. Черницкий Е.А. Структура и функции эритроцитарных мембран / Е.А. Черницкий, А.В. Воробей. – Минск: Наука и техника, 1981. – 216 с.
49. Эритроцит при патологии: размышления у электронного микроскопа / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий, Е.А. Степовая, С.Б. Ткаченко // Архив патологии. – 2004. – № 3. – С. 53–61.
50. A band 3-based macrocomplex of integral and peripheral proteins in the RBC membrane / L.J. Bruce, R. Beckmann, M.L. Ribeiro et al. // *Tanner BLOOD*. – 2003. – Vol. 101, N 10. – P. 4180–4188.
51. Ahearn J.M. Structure and Function of the Complement Receptors CR1 (CD35) and CR2 (CD21) / J.M. Ahearn, D.T. Fearon // *Adv. Immunol.* – 1989. – Vol. 46. – P. 183–219.
52. Aquaporin CHIP: the archetypal molecular water channel / P. Agre, G.M. Preston, B.L. Smith et al. // *Am. J. Physiol Renal Physiol.* – 1993. – Vol. 265. – P. 463–476.
53. Assay of catechol-o-methyltransferase activity in human erythrocytes using norepinephrine as a natural substrate / M. Masuda, M. Tsunoda, V. Vusa et al. // *Ann. Clin. Biochem.* – 2002. – Vol. 39, Pt. 6. – P. 589–594.
54. Brown K.E. Parvovirus B19 infection and hematopoiesis / K.E. Brown, N.S. Young // *Blood Rev.* – 1995. – Vol. 9. – P. 176–182.
55. Cartron J.-P. Molecular basis of red cell protein antigen deficiencies / J.-P. Cartron // *Vox Sang.* – 2000. – Vol. 78, Supl. 2. – P. 7–23.
56. Defective urinary-concentrating ability due to a complete deficiency of aquaporin-1 / L.S. King, M. Choi, P.C. Fernandez et al. // *New Engl. J. Med.* – 2001. – Vol. 345. – P. 175–179.
57. Evidence for the Presence of Aquaporin-3 in Human Red Blood Cells / N. Roudier, J.-M. Verbavatz, C. Maurel et al. // *The Journal of Biological Chemistry.* – 1998. – Vol. 273 – P. 8407–8412.
58. Evidence that aquaporin 1 is a major pathway for CO_2 transport across the human erythrocyte membrane / V. Endeward, M. Aziz, G.J. Cooper, L.-M. Chen // *FASEB J.* – 2006. – Vol. 20. – P. 1974–1981.
59. Fua D. The structural basis of water permeation and proton exclusion in aquaporins (Review) Click here for immediate access to the latest key research articles / D. Fua, M. Lu // *Molecular Membrane Biology.* – 2007. – Vol. 24. – P. 366–374.
60. Functional Analysis of Aquaporin-1 Deficient Red Cells. Colton-null phenotype / J.C. Mathai, S. Mori, B.L. Smith et al. // *The Journal of Biological Chemistry.* – 1996. – Vol. 271. – P. 1309–1313.
61. GIL: a red cell antigen of very high frequency / G.L. Daniels, E.N. DeLong, V. Hare et al. // *Immunohematology.* – 1998. – Vol. 14. – P. 49–52.
62. Human Red Cell Aquaporin CHIP / B.L. Smith, G.M. Preston, F.A. Spring et al. // *J. Clin. Invest.* – 1994. – Vol. 94, N 09. – P. 1043–1049.
63. Iverius P.H. The interaction between human plasma lipoproteins and connective tissue glycosaminoglycans / P.H. Iverius // *J. Biol. Chem.* – 1972. – Vol. 247. – P. 2607–2613.

64. Kay M.M. Generation of senescent cell antigen on old cells initiates IgG binding to a neoantigen / M.M. Kay // Cell. Mol. Biol. — 1993. — Vol. 39, N 2. — P. 131–153.

65. Kidd blood group and urea transport function of human erythrocytes are carried by the same protein / B. Olives, M.-G. Mattei, M. Huet et al. // J. Biol. Chem. — 1995. — Vol. 270, N 26. — P. 15607–15610.

66. Lachmann P.J. The control of homologous lysis / P.J. Lachmann // Immunol. Today. — 1991. — Vol. 12, N 9. — P. 312–315.

67. Mutations in aquaporin-1 in phenotypically normal humans without functional CHIP water channels / G.M. Preston, B.L. Smith, M.L. Zeidel et al. // Science. — 1994. — Vol. 265. — P. 1585–1587.

68. Polyuria of thyrotoxicosis: Downregulation of aquaporin water channels and increased solute excretion / W. Wang, C. Li, S.N. Summer, et al. // Schrier Kidney International. — 2007. — Vol. 72, N 1. — P. 1088–1094.

69. Red blood cells are a sink for interleukin 8, a leukocyte chemotaxin / W.C. Darbonne, G.C. Rice, M.A. Mohler et al. // J. Clin. Invest. — 1991. — Vol. 88, N 4. — P. 1362–1369.

70. Reinhart W. Hematology: blood flow hematology / W. Reinhart // Schweiz Med Wochenschr. — 1995. — Vol. 125, N 9. — P. 387–395.

71. Rhesus-associated glycoprotein mediates facilitated transport of NH₃ into red blood cells / P. Ripoche, O. Bertrand, P. Gane et al. // PNAS. — 2004. — Vol. 101, N 9. — P. 17222–17227.

72. Telen M.J. Erythrocyte blood group antigens: polymorphisms of functionally important molecules / M.J. Telen // Semin. Hematol. — 1996. — Vol. 33, N 4. — P. 302–314.

73. The erythrocyte as regulator of vascular tone / M. Ellsworth, T. Forrester, C. Ellis, H. Dietrich // Amer. J. Physiol. — 1995. — Vol. 269, N 6, Pt 2. — P. 312–324.

74. Tournamille C. Molecular basis and structure-activity relationships of the Duffy blood group antigens: chemokine and Plasmodium vivax receptors / C. Tournamille // Transfus. Clin. Biol. — 2000. — Vol. 74, N 5. — P. 497–509.

75. Van-Gelder J. Erythrocyte aggregation and erythrocyte deformability modify the permeability of erythrocyte enriched fibrin network / J. Van-Gelder, C. Nair, D. Dhall // Throm. Res. — 1996. — Vol. 82, N 1. — P. 33–42.

Сведения об авторах

Боровская Марина Казимировна – м.н.с., 664035, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 327«Б» – 28. тел. 40-77-46.

Кузнецова Эмма Эфраимовна – к.м.н., с.н.с. лаборатории биохимии НЦРВХ СО РАМН, 664079 Иркутск, микрорайон Юбилейный, 100. Тел. (3952) 40-78-09.

Горохова Виктория Григорьевна – к.х.н., с.н.с. лаборатории биохимии НЦРВХ СО РАМН, 664079 Иркутск, микрорайон Юбилейный, 100. Тел. (3952) 40-78-09.

Корякина Лариса Борисовна – к.м.н., с.н.с. лаборатории микробиологии и гемостаза НЦРВХ СО РАМН, 664079 Иркутск, микрорайон Юбилейный, 100. Тел. (3952) 40-78-09.

Курильская Татьяна Ефимовна – д.м.н., зав. научным отделом коронарного атеросклероза НЦРВХ СО РАМН, 664079, Иркутск, микрорайон Юбилейный, 100. Тел. (3952) 40-78-09.

Пивоваров Юрий Иванович – д.м.н., проф., вед.н.с. научного отдела коронарного атеросклероза НЦРВХ СО РАМН, 664079, Иркутск, микрорайон Юбилейный, 100. Тел. (3952) 40-78-09.