

УДК 612.115.3-615.273.53

## ОСМОТИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ, МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И КОРРЕКЦИИ, ЗНАЧЕНИЕ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОЛОГИЯХ

© 2019 г. М. Г. Голубева\*

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия*

*\*e-mail: Mgolubeva46@mail.ru*

Поступила в редакцию 07.05.2019 г.

После доработки 07.05.2019 г.

Принята к публикации 07.05.2019 г.

Приводятся современные данные литературы и результаты собственных экспериментов по изучению механизмов изменения осмотической резистентности эритроцитов. Особый акцент делается на важности этого метода при изучении старения клеток, а также хранения крови для переливания в банках крови. Подчеркивается необходимость изучения осмотической резистентности эритроцитов в практике клинической и спортивной медицины, а также в исследовательских целях для проверки эффективности действия лекарственных препаратов и регуляторных пептидов.

*Ключевые слова:* эритроциты, осмотическая резистентность, гемолиз, регуляторные пептиды

**DOI:** 10.1134/S004213241905003X

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время достоверно доказано, что многие тяжелые заболевания связаны с нарушениями в клеточной мембране. Причем это относится как к изменениям в строении мембраны, так и к межмембранному взаимодействию клеток. Большой процент населения земли так и иначе страдает заболеваниями, связанными с нарушениями эритроцитов, что делает их наиболее распространенными среди наследственных болезней. Многолетние исследования клеток крови и особенно эритроцитов показало, что их мембраны, в силу своей определенной доступности и относительно простого, но стандартного строения, могут быть хорошей моделью при изучении мембран других клеток. Использование эритроцитов позволяет достаточно простыми методами давать объективную оценку степени повреждения клеточных мембран (Замышляева, 2007). Нарушение структуры мембран эритроцитов влечет за собой изменение их функциональных свойств и приводит к агрегации, патофизиологические последствия которой проявляются нарушением микроциркуляции и, как следствие, изменением метаболизма и функций органов и тканей.

Транспортировка кислорода с кровью от легких ко всем органам и тканям и перемещение углекислого газа в обратном направлении свидетельствуют об особом месте красных клеток крови в кровотоке. Емкость эритроцитов для

доставки кислорода в ткани зависит как от их механической стабильности, так и от гибкости плазматической мембраны. Разрушение эритроцитов может происходить как в организме, так и при неправильном хранении крови. В настоящее время существует большое количество исследований, посвященных гемолизу эритроцитов. При диагностике некоторых болезней и терапии отдельными препаратами необходимо знать, при каких условиях может произойти гемолиз, чтобы вовремя скорректировать лечение, поскольку во многих случаях при отмене препарата нормальный фон крови восстанавливается (<http://krasnayakov.ru/analizy-krovi/gemoliz-pri-zabore-krovi.html>). При изучении свойств красных клеток крови, чтобы полностью оценить клиническую картину заболевания, необходимо определять осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ), так как именно устойчивость мембраны к различным воздействиям свидетельствует о способности эритроцитов противостоять множеству патогенных воздействий.

### ЧТО ТАКОЕ ГЕМОЛИЗ

Из школьного курса анатомии и физиологии человека мы все помним картинку с изображением эритроцитов в растворах с разным содержанием солей. Если эритроциты находятся в гипотоническом растворе, то осмотическое давление внутри них оказывается выше, чем в окружаю-

шем растворе, и вода из раствора поступает внутрь эритроцитов, вызывая увеличение их объема и разрыв оболочки. Это происходит тогда, когда осмотическое давление окружающего эритроцита раствора уменьшается вдвое по сравнению с нормальным. При небольшой гипотонии солевого раствора, в котором находятся эритроциты, они не разрушаются, а лишь набухают и несколько увеличиваются в размерах. В данном обзоре мы не будем останавливаться на подробном описании процессов гемолиза, поскольку в настоящее время существует большое количество работ, посвященных самым разным сторонам этого процесса. Отметим только, что осмотическое давление, создаваемое высокой внутриклеточной концентрацией белков, в значительной степени компенсируется малой концентрацией низкомолекулярных веществ, и поэтому осмотическое давление в эритроцитах лишь немногим выше, чем в плазме: величина его как раз достаточна для обеспечения нормального тургора этих клеток. Мембрана эритроцита пропускает низкомолекулярные вещества, причем проницаемость ее для разных ионов различна. Благодаря проницаемости при угнетении активного транспорта ионов (натрия — из клетки, калия — в клетку) снижается их трансмембранный концентрационный градиент. Высокое внутриклеточное содержание белков, которое при этом остается постоянным, перестает компенсироваться, и осмотическое давление в эритроците возрастает. В результате вода начинает поступать в эритроцит и поступает до тех пор, пока он не лопнет и гемоглобин не выйдет в плазму. Данный процесс называется осмотическим гемолизом (<http://vlnamed.com/gemoliz/>).

В настоящее время существуют определенные расхождения в понимании термина гемолиз. Термин гемолиз исходит из латинского *hemo* (кровь) и *lysis* (разрыв). Некоторые авторы ограничили использование этого термина только эритроцитами (эритролиз), в то время как другие использовали его по отношению ко всем клеткам крови (панцитоллиз) (Hawkins, 2010). Авторы отмечают, что необходимо более конкретное использование терминологии для дифференцировки лизиса различных клеток (эритролиз, лейколиз, тромбоцитоллиз, панцитоллиз) и механизмов повреждения клеток (лизис, утечка).

Гемолиз может происходить в крови (внутрисосудистый гемолиз) либо в клетках ретикулоэпителиальной системы (внутриклеточный гемолиз). В норме наблюдается внутриклеточный гемолиз: часть эритроцитов ежедневно разрушается, преимущественно в селезенке, а освободившийся гемоглобин превращается в билирубин. Естественный гемолиз представляет собой непрерывную цепочку химических процессов, в результате которых состав эритроцитов обновляется, при условии нормального функционирования струк-

тур ретикулоэндотелиальной системы. В интернете приводится большое количество видов гемолиза и причин его возникновения, а также приводятся примеры коррекции этих нарушений (<https://tutknow.ru>). Кроме того, отмечается возможность разрушения красных клеток крови при лечении некоторыми фармацевтическими средствами, такими как ацетилсалициловая кислота, средства против туберкулеза и малярии, а также яды некоторых змей. К вариантам гемолитических реакций, которые наблюдаются в лабораторных условиях, относятся температурный и осмотический гемолиз. При первом типе гемолиза цепочки гемолитических реакций запускаются в результате воздействия критических низких температур на компоненты крови. При осмотическом гемолизе разрушение эритроцитов происходит при попадании крови в гипотоническую среду ([sosudinfo.ru/krov/biochimichesky-analiz/](http://sosudinfo.ru/krov/biochimichesky-analiz/)).

### ОСМОТИЧЕСКАЯ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ

Для определения патологии эритроцитов используется множество методов. В данной работе хотелось бы более подробно остановиться на таком понятии как осмотическая резистентность эритроцитов (ОРЭ). Термин “резистентность” (от латинского *resistentia* — устойчивость, сопротивление) означает сопротивляемость какому-либо фактору. Способность эритроцитов препятствовать осмотическому давлению и называется ОРЭ. Можно сказать, что осмотическая резистентность оценивает степень гемолиза кровяных клеток при различной степени осмотического стресса, причем у пожилых людей ОРЭ ниже, а у молодых — выше, и ее диапазон шире (Madden et al., 2014).

В литературе описано несколько методов оценки структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов и, в частности, их ОРЭ. Чаще всего используется исследование их осмотической резистентности в модификации Л.И. Идельсона (Голубева, 2010а). Метод основан на том факте, что в гипотонических растворах происходит набухание и гемолиз эритроцитов, поэтому для определения ОРЭ используют растворы хлорида натрия различной концентрации. Растворы разливают в пробирки по 5 мл. В каждую пробирку добавляют 0.02 мл исследуемой крови. Содержимое перемешивают и оставляют на 60 мин. После чего снова перемешивают и центрифугируют растворы при 2000 об./мин 5 мин. Затем измеряют оптическую плотность надосадочного раствора. Степень гемолиза рассчитывают по формуле:

$$\text{Степень гемолиза, \%} = E_n/E_l \times 100\%,$$

где  $E_n$  — оптическая плотность раствора,  $E_l$  — оптическая плотность раствора с концентрацией  $\text{NaCl} = 0.1\%$ .

Известны также микропипеточный и фильтрационный методы, которые, однако, требуют большого количества крови, поэтому их не всегда можно применять. Так, в следующем исследовании при сравнении эритроцитов новорожденных (малое количество крови) и взрослых методами осмотической и аммонийной нагрузок изучали гематологические параметры и функциональное состояние эритроцитов. Отмечался значительный разброс осмотической хрупкости эритроцитов новорожденных при переходе от набухания к гемолизу. Методом малоуглового светорассеяния (LaSca-анализатор) изучалась кинетика гемолиза эритроцитов при аммониевой нагрузке. Было показано, что процент гемолиза эритроцитов меньше, а скорость гемолиза у новорожденных в 2.5 раза ниже, чем у взрослых (Евсюкова и др., 2014). Польские исследователи (Walski et al., 2014) показали, что осмотическая хрупкость нормальных отмытых эритроцитов сопоставима с хрупкостью эритроцитов, подвергнутых облучению инфракрасными лучами или озонированию, причем авторы полагают, что помимо использования средней кривой гемолиза необходимо использовать тест наклона кривой гемолиза в области, где абсорбция резко возрастает из-за клеточного гемолиза. Это дает более полную картину полученных данных.

Одной из ключевых сигнальных молекул, регулирующих функции сердечно-сосудистой, нервной и иммунной систем организма является оксид азота (NO), который влияет на ОРЭ и на перенос эритроцитами кислорода. Сигнальная функция NO была в значительной степени не оценена до тех пор, пока фактор релаксации эндотелия не был идентифицирован как NO. С тех пор эндотелиальный NO считается основным источником NO в сосудистом русле (Chen, Popel, 2009). Показано, что NO вызывает значительное увеличение текучести мембраны эритроцита на разных глубинах липидного бислоя, что коррелирует с увеличением перекисного окисления липидов. При этом происходят конформационные изменения белков цитоскелета. То есть NO можно рассматривать как молекулу, ответственную за реологические свойства мембраны эритроцитов. Авторы полагают, что NO действует как прооксидантная молекула в концентрациях, для которых мембрана оказывается первой мишенью на пути в цитозоль (Brzeszczanska, Gwozdzinski, 2008). Поскольку установлено, что эритроциты обладают NO-синтазой эндотелиального типа, они могут частично регулировать функцию тромбоцитов, путем выделения NO на месте (Chen, Mehta, 1998).

## СТАРЕНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ И ОРЭ

Одной из причин изменения ОРЭ может быть старение клеток. ОРЭ зависит от того, какую форму имеют клетки и на какой стадии зрелости

они находятся. Стабильность мембран старых клеток очень низкая, и им присуща сферическая форма. Индекс сферичности, или соотношение толщины к диаметру, характеризует форму эритроцитов и в норме составляет 0.27–0.28. Эритроциты подвергаются естественному процессу старения, происходящему в кровяном русле в течение всей продолжительности жизни красных клеток крови или при обычном холодном хранении в банке крови. Эритроцитарная мембрана является подходящей моделью для изучения различных метаболических и физиологических функций, поскольку она испытывает разнообразные биохимические изменения во время старения (Shiga et al., 1990; Singh et al., 2018). Старение эритроцитов может быть связано с их механической или осмотической хрупкостью, что может привести к лизису клеток. В следующем исследовании (Orbach et al., 2017), посвященном определению биологических и биохимических маркеров хрупкости эритроцитов, было установлено, что популяции клеток, восприимчивых к механическому или осмотическому стрессу, характеризовались низкой деформируемостью и повышением уровня мембранного фосфатидилсерина (PS). Во время эксперимента отобранные эритроциты разделяли фильтрованием на две фракции: устойчивые (фракция R) и деформируемые клетки (фракция D). Осмотическая и механическая хрупкость была выше во фракции R. Авторы заключают, что уровень мембранного стоматина, мембранного PS и деформируемость эритроцитов могут быть использованы в качестве маркеров стабильности красных клеток крови.

Ранее уже отмечалось, что особое место в литературе отводится изучению мембранных липидов в эритроцитах. Они представляют собой либо фосфолипиды, либо нейтральные липиды, в основном — неэстерифицированный холестерол. Известно, что относительные количества холестерина фосфолипидов ответственны за текучесть мембраны эритроцитов. Изменения мембранного холестерола и фосфолипидов приводит к морфологическим аномалиям эритроцитов с уменьшением их срока службы. Авторы описывают и важнейшую роль мембранных белков, отмечая, что, по меньшей мере, 35–40 ферментов ограничиваются мембраной и, несомненно, играют жизненно важную роль в поддержании нормальной структуры и функции эритроцитов (Balls, Krasnow, 1980).

При сравнении эритроцитов, взятых из варикозных и периферических вен одного и того же больного, показано, что красные клетки из варикозных вен обнаруживают снижение внутривязкой вязкости и снижение текучести плазматической мембраны. В то же время конформационные изменения мембранных белков и более высокая осмотическая хрупкость этих клеток бы-

ли обнаружены по сравнению с эритроцитами, полученными из периферических вен у тех же пациентов с хронической венозной болезнью. Таким образом, представленные аномалии в мембране эритроцитов могут иметь значительные патофизиологические последствия, включая укороченную выживаемость клеток и изменения в гемореологии крови при варикозном расширении вен (Gwozdziński et al., 2017). При изучении влияния окислительного стресса на популяции предварительно фракционированных молодых и старых эритроцитов, было установлено, что снижение клеточного рН может быть одним из промоторов клеточной смерти. Старые клетки становились более сферическими и с меньшей площадью поверхности, более осмотически хрупкими, чем молодые. Таким образом, повышенный ацидоз при низком внутриклеточном рН может быть одним из определяющих факторов для исчезновения старых эритроцитов из кровообращения, а, возможно, и молодых, при окислительном стрессе (Asha Devi et al., 2009).

Использование в отдельных отраслях промышленности химических компонентов для улучшения внешнего вида изделий или обеззараживания воды показало, что применение хлорида натрия ( $\text{NaClO}_2$ ) инициирует окислительный стресс в эритроцитах человека, повреждает мембрану и ухудшает клеточную антиоксидантную защиту. Это окислительное повреждение может сократить продолжительность жизни эритроцитов в крови и соответственно привести к старению этих клеток (Ali et al., 2017).

При определении зависимости стабильности мембраны эритроцитов от возраста, состава питания, температуры и количества эритроцитов у добровольцев было показано, что устойчивость эритроцитов к гипотоническому лизису, выраженная как концентрация  $\text{NaCl}$  ( $\text{H}(50)$ ), вызывающая 50%-ный гемолиз, увеличивается с возрастом испытуемых. Но эта повышенная стабильность была более выражена среди хорошо питающихся людей, что также определялось в данном исследовании (Penha-Silva et al., 2007).

В специальном исследовании, посвященном определению корреляции между уровнем мембранных транспортеров, таких как  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  АТФаза (NKA) и  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -обменник (NHE), и старением организма, определяемым по изменению уровня сиаловой кислоты, мембранного гидроксипероксида и белков мембранного окисления у 4- и 24-месячных крыс показали, что клеточное старение в ткани связано со значительным снижением активности NKA и NHE стареющих эритроцитов по сравнению с более молодой популяцией клеток той же возрастной группы. Таким образом, нарушение гомеостаза ионов из-за измененных мембранных транспортеров может быть одной из

причин, обуславливающих старение эритроцитов крыс (Singh et al., 2016).

### ИЗМЕНЕНИЕ ОРЭ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

В интернете можно найти большое количество статей, посвященных изучению изменений ОРЭ при различных патологических состояниях. В отличие от ОРЭ, когда мы говорим об осмотической хрупкости эритроцитов, то ее можно определить как легкость, с которой клетки ломаются в физиологических растворах, и она выражается через концентрацию солевого раствора, в котором клетки гемолизируются.

Способность нормального эритроцита противостоять гипотоничности обусловлена его двояковогнутой формой, что позволяет клетке увеличивать ее объем на 70% до того, как поверхностная мембрана растянута. Как только предел достигнут, происходит лизис. Эритроцит не может вместить больше, чем его объем при перенапряжении (Kumar, 2002). Для здоровых людей характерна минимальная осмотическая стойкость эритроцитов, которая находится в пределах 0.48%  $\text{NaCl}$ , в то время как полное разрушение основной массы эритроцитов наблюдается при концентрации  $\text{NaCl}$ , составляющей 0.30% (<https://tutknow.ru>).

Хотелось бы перечислить, при каких патологических состояниях происходит повышение ОРЭ (максимальная резистентность меньше 0.32%). Прежде всего, это массивные кровопотери, при которых компенсаторно значительно увеличивается количество молодых эритроцитов с недостаточно устойчивыми мембранами. Изменение мембраны эритроцита холестериновыми бляшками также усиливает ОРЭ. Этому способствуют также различные наследственные заболевания, которые с одной стороны изменяют мембраны эритроцитов, а с другой – изменяют структуру гемоглобина, как это происходит при серповидно-клеточной анемии (Villagra et al., 2007), а также при онкологических заболеваниях кроветворных органов.

Данные интернета свидетельствуют, что снижение ОРЭ может быть связано с: 1) отравлением свинцом и его производными; 2) гемолитической анемией, при которой происходит массивный гемолиз красных кровяных телец. Причины различны: аутоиммунные, наследственные заболевания, гемолитическая желтуха новорожденных и другие; 3) небольшое снижение возможно из-за туберкулеза, сердечной недостаточности. Патологическая ОРЭ может привести к неконтролируемому гемолизу прямо в кровяном русле, лейкозу (рак крови), циррозу печени (<http://onlab.info/sanguis/redcellindices6.html>).

Клинические проявления нарушения ОРЭ часто не выражены, и данная патология может быть

обнаружена только при лабораторных исследованиях. Наиболее эффективный способ лечения — устранение причины, то есть основного заболевания (если оно наследственное, то проводят симптоматическую терапию).

Известно, что многие патологические состояния могут изменять состояние и функционирование эритроцитов. Не имея ядра и обладая минимальной синтетической способностью, эритроциты чувствительны к изменениям в химическом составе плазмы и, прежде всего, липидов. В экспериментах показано, что у гиперлипидемических и дислипидемических собак с сахарным диабетом, получавших глюкокортикоиды, эритроциты были значительно более хрупкими, чем у контрольных животных, причем эти эффекты коррелировали больше с уровнями бета-липопротеинов и несколько меньше — с уровнем холестерина в сыворотке у обеих групп собак. Авторы полагают, что липидный состав мембраны имеет решающее значение для поддержания структуры и текучести клеток (Behling-Kelly, Collins-Cronkright, 2014; Soares et al., 2014). В другом исследовании было показано, что гликемическая изменчивость выявила корреляции с окислительным стрессом и переменными стабильности мембраны эритроцитов. Это подтверждает гипотезу о том, что гликемические флуктуации влияют на перекисное окисление липидов и поведение клеточной мембраны, которое, в свою очередь, участвует в механизмах, связанных с развитием хронических осложнений диабета (Rodrigues et al., 2018). При изучении гемореологических параметров и содержания тубулина, который, как известно, является белком микротрубочек цитоскелета клетки, у больных диабетом было показано, что обработка эритроцитов человека высокими концентрациями глюкозы изменила содержание и распределение трех изоформ тубулина с последующим снижением деформируемости эритроцитов и ОРЭ. Высокие концентрации глюкозы способствуют ацетилированию тубулина и транслокации этого тубулина в мембрану. Тубулин участвует в регуляции деформируемости эритроцитов и осмотической хрупкости (Nigra et al., 2016).

При экспериментальном гипотиреозе у крыс изучали связь между осмотической хрупкостью эритроцитов, окислительным стрессом и антиоксидантным статусом. Было установлено, что минимальное предельное значение осмотического гемолиза гипотиреоидной группы выше, чем значения контрольной группы. Кроме того, гемолитическая кривая приращения группы гипотиреоидов, проведенная в соответствии с результатами исследования осмотической хрупкости, была сдвинута вправо по сравнению с кривой контрольной группы, что явилось доказательством повышенной осмотической хрупкости эритроцитов при гипотиреозе. Но по перекисному окисле-

нию липидов и антиоксидантным показателям достоверной разницы не наблюдалось, то есть авторы полагают, что увеличение осмотической хрупкости эритроцитов при гипотиреозе происходит не от перекисного окисления липидов (Dariyerli et al., 2004).

Текучесть эритроцитарной мембраны значительно изменялась при иммобилизации, причем в зависимости от длительности иммобилизации эти реакции были разной продолжительности и интенсивности (Liu et al., 2002). Таким образом, в зависимости от вида патологии механизмы изменения ОРЭ могут быть различными.

При гипертонии различные виды терапии по-разному влияют на осмотическую хрупкость эритроцитов, при этом Z-потенциал эритроцитов (показатель устойчивости мембраны) снижался при увеличении осмотической хрупкости (Gaikwad, Avari, 2017). В специальном исследовании, посвященном влиянию диуретиков на гипертензивных пациентов, было показано, что при использовании мочегонной терапии показатели ОРЭ приближались к значениям у нормотензивных испытуемых. Таким образом, ОРЭ можно рассматривать как скрининговое средство для пациентов с артериальной гипертонией, которым будет показано лечение диуретиками (Fasanmade, 1999). Особое место в развитии сердечно-сосудистой патологии занимает уровень холестерина. Показано, что высокий уровень холестерина в мембране эритроцитов способствует развитию атеросклероза, причем установлена прямая связь между уровнем холестерина и тяжестью атеросклероза. Красные клетки крови вносят вклад в развитие заболевания разными путями, особенно когда они являются ловушками при внутрисосудистых кровоизлияниях. Эти эритроциты окисляются и фагоцитируются макрофагами. Холестерин, присутствующий в мембране этих эритроцитов, впоследствии способствует росту бляшки. При разрыве этих эритроцитов выделяется гемоглобин, что приводит к освобождению свободных радикалов, увеличение которых может предсказать ухудшение атеросклероза из-за воздействия воспаления и окислительного стресса на эритропоэз и объем эритроцитов. Авторы подчеркивали, что лучшее понимание участия эритроцитов в атеросклерозе может способствовать улучшению стратегий профилактики и лечения этого заболевания (da Silva Garrote-Filho et al., 2017; Lopez de Frutos et al., 2018).

В наших экспериментах мы изучали изменения ОРЭ в динамике развития экспериментального перитонита через 30 мин, 2 и 18 ч после индукции воспаления. Для моделирования экспериментального перитонита использовали внутрибрюшинное введение провоспалительного агента 40%-го раствора тиюгликолата в дозе 4 г/кг белым крысам. Стати-

стически достоверные отличия в ОРЭ от контроля наблюдали через 2 ч после введения тиогликолата. Введение пептида Pro-Gly-Pro (PGP) до индукции воспаления уменьшало патологические изменения ОРЭ. Процент гемолизированных клеток снижался, различия были достоверными в растворах с содержанием соли 0.4% и 0.3%. Пептид, введенный на фоне развившегося воспаления (через 1 ч 45 мин после введения тиогликолата), не оказывал корректирующего действия на ОРЭ. Полученные результаты свидетельствуют о способности PGP оказывать профилактическое протекторное действие на мембрану эритроцитов, предотвращая снижение ОРЭ (Бондаренко, 2012). Для такого тяжелого заболевания как эмфизема легких характерно изменение ОРЭ с увеличением количества ретикулоцитов. Полагают, что это происходит из-за изменения мембранного состава жирных кислот в результате усиления перекисного окисления липидов, вызванного приростом реактивных окислителей, связанных с заболеванием. После операции по уменьшению объема легких происходило значительное улучшение дыхательной функции, нормализовалось содержание жирных кислот ОРЭ, а также уровень антиоксидантных ферментов эритроцитов по сравнению с контрольными пациентами. Таким образом, удаление воспалительной эмфизематозной ткани может существенно улучшить состояние пациентов и восстановить корреляцию между антиоксидантными ферментами и ОРЭ (Mineo et al., 2014). В большом обзоре, посвященном истории и современным аспектам изучения строения и функционирования мембраны эритроцитов, авторы отмечают, что подобные исследования могут пролить определенный свет на проблемы многих заболеваний, даже таких, как тяжелые формы малярии, которой, как известно, страдают более 1 млрд человек (Mohandas, Gallagher, 2008).

#### ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТА

Основная функция эритроцитов при упражнениях — перенос  $O_2$  из легких в ткани и доставка метаболически продуцируемого  $CO_2$  в легкие для выдоха. Гемоглобин также способствует буферной способности крови, а выброс АТФ и NO из красных кровяных клеток способствует вазодилатации и улучшает приток крови к рабочей мышце. Эти функции требуют достаточного количества эритроцитов в обращении. У тренированных спортсменов, особенно в спорте на выносливость, отмечается уменьшенный гематокрит. Такое состояние иногда называют «спортивной анемией». Это не анемия в классическом смысле, потому что у спортсменов на самом деле увеличивается общая масса гемоглобина и эритроцитов в кровообраще-

нии по сравнению с нетренированными индивидуумами. Небольшое снижение гематокрита путем тренировки обусловлено увеличением объема плазмы. По каким механизмам это происходит до конца не понятно. Несмотря на постоянный эритропоэз, тренировки могут уменьшать массу эритроцитов за счет внутрисосудистого гемолиза в основном из стареющих клеток, что вызвано механическим разрывом при прохождении эритроцитов через капилляры в сокращающихся мышцах, и путем сжатия эритроцитов, например, в подошвах ног во время бега или в ладонях у тяжелоатлетов. Это все вызывает снижение популяции циркулирующих эритроцитов у обученных спортсменов. Новые молодые эритроциты отличаются лучшей деформируемостью и улучшенным высвобождением кислорода, что значительно улучшает подачу кислорода к тканям во время физической нагрузки (Mairbaurl, 2013).

Физическая нагрузка разной степени интенсивности может использоваться как модель модулятора свободных радикалов и изучения окислительного стресса и изменений физико-химических свойств мембраны эритроцитов. Исследовали конформационные изменения мембранных белков эритроцитов, текучесть мембран и их восприимчивость к дезинтеграции. Использовали велотренажеры с дозированной нагрузкой. Методом электронной парамагнитной резонансной спектроскопии определяли динамику мембраны и исследовали мембранные белки и образование свободных радикалов. Результаты показали наличие слабого окислительного стресса после однократной физической нагрузки, что вызывало структурные изменения компонентов белков мембран эритроцитов и изменения в организации мембран (мембранные липиды), которые следовали за перекисным окислением липидов, но не приводили к гемолизу (Brzeszczanska et al., 2008). Большое количество работ посвящено оценке влияния различной физической нагрузки на ОРЭ. В этих исследованиях использовали разные виды физической нагрузки, например плавание, бег, причем это могли быть непрерывные упражнения средней интенсивности (УСИ) в течение 60 мин или серия упражнений с высокой интенсивностью до истощения (УВИ). Авторы полагают, что во время УСИ лизис происходил в основном за счет старых эритроцитов с сохранением более крупных клеток и более устойчивых к лизису *in vitro*. Стабильность эритроцитов увеличивалась после УСИ и уменьшалась после УВИ. Таким образом, интенсивная подготовка привела к уменьшению ОРЭ, возможно, связанному с обострением окислительных процессов во время интенсивных упражнений. Хроническая подготовка в течение 18 нед. приводила к повышению ОРЭ, возможно путем модуляции содержания

мембранного холестерина и липопротеидов низкой и высокой плотности (Paraiso et al., 2014, 2017).

Известно, что внутрисосудистый гемолиз является одним из важнейших механизмов разрушения эритроцитов во время и после физической активности (Chang et al. 2016). Одним из факторов, объясняющих внутрисосудистый гемолиз при упражнениях, является окислительный стресс. Антиоксидантная терапия витаминами А, С и Е в течение 2-х мес. предотвращала индуцированный физической нагрузкой окислительный стресс, а также вредное воздействие упражнений на нетренированных субъектов. Если до терапии у нетренированных субъектов упражнения вызывали повышение осмотической хрупкости и снижение деформируемости эритроцитов, сопровождавшихся признаками внутрисосудистого гемолиза (увеличение концентрации гемоглобина в плазме и снижение уровня гепатоглобулина), то введение антиоксидантных витаминов предотвращало вызванный физической нагрузкой окислительный стресс. У спортсменов же до введения препаратов основные характеристики эритроцитов не изменялись, хотя и у них наблюдался повышенный окислительный стресс. Лечение антиоксидантами предотвращало развитие окислительного стресса и у них (Senturk et al., 2001, 2005).

Определенный интерес представляют работы, отмечающие влияние АТФ эритроцитов на процессы гемолиза. Определяли АТФ и свободный гемоглобин в образцах, чтобы оценить вклад гемолиза в высвобождение АТФ. Показано, что гипотонический шок, напряжение сдвига и гипоксия значительно усиливают высвобождение АТФ красными клетками крови, обусловленное активацией каналов, содержащих АТФ. Причем наблюдалась четкая корреляция между свободным гемоглобином и уровнем АТФ (Сидоренко и др., 2018; Сидоренко, 2019). Авторы отмечают, что ключевую роль в высвобождении АТФ из эритроцитов играет именно гемолиз. Методом люминесцентного анализа было показано, что АТФ выделяется исключительно из лизирующих клеток, а интактные клетки в этом участия не принимают. Авторы полагают, что такой механизм может встречаться *in vivo* и может играть физиологическую и патофизиологическую роль в локальных пуринергических сигналах и регуляции кровотока при физической нагрузке и гипоксии. При этом увеличивается внутрисосудистый гемолиз, в основном из стареющих клеток, которые механически разрушаются, когда они проходят через капилляры при сокращении мышц. Тренировка при гипоксии вызывает старение эритроцитов, снижает деформируемость при сдвиговом потоке и таким образом повышает восприимчивость к разрыву мембраны. Авторы отмечают изменение хрупкости эритроцитов и при ряде заболеваний, таких как талассемия, сфероцитоз и

хронические заболевания печени. Таким образом, механизм высвобождения АТФ, включающий лизис стареющих клеток, может играть важную роль при сопоставлении потребности в кислороде во время физических упражнений и гипоксии, когда наблюдается повышенный внутрисосудистый гемолиз (Sikora et al., 2014). Поскольку данный вид гемолиза встречается у пловцов, велосипедистов и бегунов, при работе со спортсменами обычно используют гемолиз стопы для объяснения спортивной анемии у спортсменов. Некоторые авторы полагают, что возможными причинами этих и других нарушений является внутримышечное разрушение, осмотический стресс и перекисное окисление липидов мембран, вызванное свободными радикалами, выделяемыми антивирусными лейкоцитами (Потапенко и др., 2006). Внутрисосудистый гемолиз можно даже рассматривать как физиологическое средство для поддержания гема и белков для роста мышц (Robinson et al., 2006).

#### ПРОБЛЕМЫ ХРАНЕНИЯ ДОНОРСКОЙ КРОВИ И ОСМОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

Сохранение донорской крови и ее компонентов имеет огромное значение для пациентов, нуждающихся в трансфузии. Аномальный гемолиз в отдельных блоках эритроцитов может быть вызван несколькими факторами, включая неправильное обращение во время обработки крови, несоответствующие условия хранения, бактериальные гемолизины, антитела, которые вызывают лизис комплимента, дефекты в мембране эритроцита или аномалии в крови донора. Степень гемолиза описывается как процент свободного гемоглобина по отношению к полному гемоглобину с соответствующей коррекцией гематокрита. Автор (Sowemimo-Coker, 2002) в своем докладе подчеркивает необходимость строгого контроля за различными процессами, которые участвуют в подготовке эритроцитов из цельной крови, чтобы свести к минимуму возникновение гемолиза и минимизировать потери эритроцитов, вызванные гемолизом.

Огромное количество факторов влияют на сохранность донорской крови, ее получение и использование. Были рассмотрены некоторые из них, влияющие на повреждение эритроцитов при хранении. К таким факторам относят продолжительность хранения, методологию изготовления компонентов крови и характеристики донора. Во время хранения эритроциты подвергаются ряду биохимических, морфологических и метаболических изменений, которые все вместе называются "повреждение памяти". Одним из важнейших параметров является мембранная водопроницаемость во время хранения, поскольку это может быть предсказателем биофизических и химиче-

ских изменений, которые влияют на качество эритроцитов во время гипотермического хранения. Авторы (Alshalani et al., 2018) показали, что образцы, обработанные с использованием методов производства цельной крови, демонстрировали значительно более высокую мембранную водопроницаемость по сравнению с единицами, изготовленными с использованием фильтрации красных клеток. Между методами наблюдались различия в гемолизе, супернатантном калии и натрии, хотя не было различий между донорами разных возрастных групп и пола.

Некоторые исследователи определяли влияние криоконсервации на повреждение эритроцитов. При этом данные сравнивали с традиционным хранением при 4°C. Было установлено, что поражение красных кровяных клеток ускоряется в ранее консервированном пуле эритроцитов после оттаивания. Биохимическое повреждение талых или деглицеризированных красных клеток крови указывает на то, что время хранения и время до трансфузии должно быть ограничено. Огромное значение для соблюдения целостности донорской крови при хранении, а также во избежание бактериальных заражений, является строгое соблюдение основных принципов хранения и прежде всего температуры. В специальном исследовании сравнивали влияние повышения температуры на повреждение образцов цельной крови и образцов эритроцитов. Постепенное увеличение температуры цельной крови с 4 до 17°C привело к увеличению числа случаев гемолиза в пакетах с эритроцитами, но не в цельной крови. Таким образом, гемолиз представляет собой определенный показатель, который может частично предсказать повреждающее действие нарушения хранения крови (Tzounaras et al., 2017).

### ПЕПТИДНАЯ КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ОРЭ

Длительное изучение влияния регуляторных пептидов на различные функции эритроцитов, в том числе и на ОРЭ, позволяет сделать определенные выводы. Как уже отмечалось выше, многие болезни связаны с нарушением мембраны эритроцитов (Голубева, 2017). В практическом отношении важна оценка изменения ОРЭ под влиянием различных экзогенных и эндогенных факторов, в том числе некоторых гормонов. Установлено, что некоторые регуляторные пептиды способны предотвращать или значительно уменьшать степень нарушения микроциркуляции и развития воспалительных реакций при разных видах стресса (Голубева, 2018). Ранее мы уже отмечали роль пептида PGP в изменениях ОРЭ при экспериментальном панкреатите (Голубева и др., 2012). Полученные результаты подтверждают наше предположение о том, что пептид при профилактическом применении ока-

зывает протекторное действие на мембрану клеток, повышая их ОРЭ.

Известно, что в регуляции веса тела принимают участие пептидные гормоны. При исследовании группы пептидов, регулирующих пищевое поведение и относящихся к группе грелина, повышающего аппетит, был обнаружен другой гормон — обестатин, полученный из того же предшественника, но обладающий противоположным — анорексическим действием, усиливая моторику желудка и вызывая снижение потребления пищи (Mondal et al., 2008), то есть существуют два белка с противоположным действием по отношению к регуляции веса и синтезирующиеся при участии одного и того же гена. Определены рецепторы к этим пептидам (Zhang et al., 2005). Показано, что пептиды оказывают центральное и периферическое действие. В экспериментах *in vitro* было показано, что изменение ОРЭ носило дозозависимый характер, причем при высоких дозах пептида устойчивость эритроцитов к гемолизу снижалась, то есть обестатин в высоких дозах может оказывать повреждающее действие на мембрану эритроцита. Только в дозе 300 нМ пептид не оказывал отрицательного действия на эритроциты. Поэтому в экспериментах *in vivo* изучали влияние этой дозы обестатина на функциональную активность форменных элементов крови при разных способах введения (интраназально, подкожно, внутривенно). ОРЭ и через сутки, и через неделю при всех способах введения пептидов оставалась на уровне контрольных значений. Поскольку пептид благоприятно действует на тромбоцитарное звено гемостаза, снижая дозозависимым образом агрегацию тромбоцитов, можно предположить, что в данной дозе обестатин можно использовать при коррекции массы тела, но это требует дальнейшего исследования (Хиразова и др., 2013).

Особое внимание хотелось бы обратить на собственные эксперименты, связанные с изучением влияния пептидов-ноотропов, таких как тиролиберин (TRH) и СЕМАКС. В наших экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* было показано, что при добавлении к пробам крови TRH устойчивость эритроцитов к гемолизу не изменялась, что свидетельствует о том, что в условиях физиологической нормы пептид не влияет на эритроциты. Однако в условиях иммобилизационного стресса было показано, что TRH повышал ОРЭ (Голубева, 2010a). Так же, как TRH, нейропептид СЕМАКС, полученный на основе аденокортикотропного гормона гипофиза, вызывал повышение ОРЭ при иммобилизационном стрессе. Это особенно важно, поскольку во многих работах отмечается снижение гемолитической стойкости эритроцитов при иммобилизации. Но, в отличие от TRH, пептид не влиял существенно на свертывание крови. Вероятно, это является положительным моментом, поскольку позволяет использовать препарат для

коррекции нарушений памяти без побочных эффектов со стороны системы гемостаза (Голубева, 2010б). Таким образом, нейропептиды могут снижать стрессогенное воздействие на мембрану эритроцита, повышая ее ОРЭ и в той или иной степени защищая ее от патогенного воздействия.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На организм современного человека одновременно оказывают негативное воздействие множество антропогенных факторов. Современная наука призвана защитить человека от агрессивного влияния окружающей среды и помочь организму выстоять в новых предлагаемых обстоятельствах при наступлении технического прогресса.

Занимаясь длительное время изучением процессов тромбообразования и участия клеток крови в развитии различных патологий сердечнососудистой системы, мы пришли к выводу, что для полного понимания механизмов возникновения этих патологий и путей их лечения необходимо комплексное изучение взаимодействия клеток крови и влияния различных факторов, прежде всего стрессогенных, на гемостаз и реологию крови.

В гематологии, помимо чисто клинических проблем, изучения механизмов клеточного взаимодействия, устойчивости клеток к различным факторам, необходимо учитывать и правильность хранения крови и ее компонентов для переливания.

Изучение ОРЭ необходимо для специалистов разных профилей. Прежде всего, это конечно гематологи и врачи других специальностей, для которых особенно важно сохранение и поддержание не только гемостаза, но и поддержание нормальной реологии крови. ОРЭ должна учитываться и в работе спортивных тренеров и врачей, поскольку тяжелые физические нагрузки связаны с нарушением мембран клеток крови и ее реологии.

Учитывая, что изменения физико-химических свойств мембраны эритроцитов является маркером воспалительного процесса, их оценка с помощью определения резистентности клеток к различным воздействиям важна как для понимания механизмов воспаления, так и поиска путей их коррекции. Кроме того, использование отдельных лекарственных препаратов может привести в качестве побочных эффектов к гемолизу или к снижению ОРЭ. Некоторые особенности диагностики нарушений мембраны эритроцитов зачастую выявляются только при комплексном подходе к исследованию, что позволяет значительно повысить эффективность лечения пациентов.

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликтов интересов.

### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бондаренко Н.С.* Защитные эффекты регуляторного пептида пролил-глицил-пролина (PGRP) при воспалении: Дис. ... канд. биол. наук: МГУ, 2012. 127 с.
- Голубева М.Г.* Влияние тиролиберина и его синтетического аналога дигипрамина на некоторые свойства эритроцитов и тромбоцитов в условиях иммобилизационного стресса // Тромб. гемост. реол. 2010а. Т. 44. № 4. С. 61–66.
- Голубева М.Г.* Нейропептид семакс изменяет функциональную активность эритроцитов и тромбоцитов при иммобилизационном стрессе // Тромб. гемост. реол. 2010б. Т. 42. № 2. С. 45–49.
- Голубева М.Г.* Современные представления о влиянии эритроцитов на реактивность тромбоцитов в процессе тромбогенеза // Успехи соврем. биол. 2017. Т. 137. № 6. С. 588–594.
- Голубева М.Г.* Стрессогенные нарушения эритроцитов и их коррекция с помощью регуляторных пептидов // Успехи физиол. наук. 2018. Т. 40. № 1. С. 3–10.
- Голубева М.Г., Умарова Б.А., Копылова Г.Н. и др.* Трипептид Pro-Gly-Pro предотвращает нарушения осмотической резистентности эритроцитов крыс при воспалении // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2012. Т. 153. № 3. С. 269–271.
- Евсюкова И.И., Якушенко Н.С., Андреева А.А. и др.* Особенности функционального состояния эритроцитов у здоровых доношенных новорожденных детей // Физиол. человека. 2014. Т. 40. № 2. С. 59–66.
- Замышляева М.В.* Патогенетические механизмы и сигнальные пути изменений агрегации эритроцитов и адгезии лейкоцитов при нарушении сосудистого тонуса и воспалении: Дис. ... канд. мед. наук: НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, 2007. 130 с.
- Потапенко Я.А., Кягова А.А., Тихомиров А.М.* Осмотическая устойчивость эритроцитов М.: ГОУВПОГРМУ, 2006. 16 с.
- Сидоренко С.В.* Изучение механизма высвобождения АТФ и нарушение структурной целостности эритроцитов в условиях гипоксии: Дис. ... канд. биол. наук: МГУ, 2019. 135 с.
- Сидоренко С.В., Лунева О.Г., Новожилова Т.С. и др.* Гемолиз и высвобождение АТФ из эритроцитов человека и крысы в условиях гипоксии // Биол. мембраны. 2018. Т. 35. № 1. С. 27–33.
- Хиразова Е.Э., Голубева М.Г., Маслова М.В. и др.* Влияние анорексогенного пептида обестатина на агрегацию тромбоцитов и осмотическую резистентность эритроцитов // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2013. Т. 155. № 2. С. 136–139.

- Ali S.N., Mahmood R.* Sodium chlorite increases production of reactive oxygen species that impair the antioxidant system and cause morphological changes in human erythrocytes // *Environ. Toxicol.* 2017. V. 32. № 4. P. 1343–1353.
- Alshalani A., Howell A., Acrtr J.H.* Impact of blood manufacturing and donor characteristics on membrane water permeability and *in vitro* quality parameters during hypothermic storage of red blood cells // *Cryobiology.* 2018. V. 80. P. 30–37.
- Asha Devi S., Shiva Sankar Reddy C.S., Subramanyam M.V.* Oxidative stress and intracellular pH in the young and old erythrocytes of rat // *Biogerontology.* 2009. V. 10. № 6. P. 659–669.
- Balls S.K., Krasnow S.H.* Structure of erythrocyte membrane and its transport functions // *Ann. Clin. Labor. Sci.* 1980. V. 10. № 3. P. 208–219.
- Behling-Kelly E., Collins-Cronkright R.* Increases in beta-lipoproteins in hyperlipidemic and dyslipidemic dogs are associated with increased erythrocyte osmotic fragility // *Vet. Clin. Pathol.* 2014. V. 43. № 3. P. 405–415.
- Brzezcznska J., Gwozdziński I.* Nitric oxide induced oxidative changes in erythrocyte membrane components // *Cell Biol. Int.* 2008. V. 32. № 1. P. 114–120.
- Brzezcznska J., Pieniazek A., Gwozdziński I. et al.* Structural alterations of erythrocyte membrane components induced by exhaustive exercise // *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 2008. V. 33. № 6. P. 1223–1231.
- Chang A.L., Hoehn R.S., Jemigan P. et al.* Previous cryopreservation alters the natural history of the red blood cell storage lesion // *Shock.* 2016. V. 46. P. 89–95.
- Chen K., Popel A.S.* Nitric oxide production pathways in erythrocytes and plasma // *Bioreology.* 2009. V. 46. № 2. P. 107–119.
- Chen L., Mehta J.* Evidence for presence of L-arginine-nitric oxide pathway in human red blood cells: relevance in the effect of red blood cells on platelet function // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998. V. 32. № 1. P. 57–61.
- Dariyerli N., Toplan S., Akyoleu M.C., Hatemi H.* Erythrocyte osmotic fragility and oxidative stress in experimental hypothyroidism // *Endocrine.* 2004. V. 25. № 1. P. 1–5.
- Fasanmade A.* Erythrocyte osmotic fragility in hypertension and during diuretic therapy // *West Afr. J. Med.* 1999. V. 18. № 3. P. 183–186.
- Gaikwad S.S., Avari J.G.* Effect on morphology, osmotic fragility and electro kinetic potential of erythrocytes in hypertension // *Curr. Hyper. Rev.* 2017. V. 11. P. 40–47.
- Gwozdziński L., Pieniazek A., Bernasinska J. et al.* Erythrocytes properties in varicose vein patients // *Microvasc. Res.* 2017. V. 111. P. 72–79.
- Hawkins R.* “Hemolysis” – toward cleaner terminology // *Archiv. Pathol. & Labor. Med.* 2010. V. 134. № 8. P. 1104–1104. <http://krasnayakrov.ru/analizy-krovi/gemoliz-pri-zabore-krovi.html>
- Kumar S.* An analogy for explaining erythrocyte fragility concepts made easy // *Adv. Physiol. Edu.* 2002. V. 26. P. 134–135.
- Liu M.-J., Li J.-X., Qin L. et al.* Immobilization-induced changes in erythrocyte membrane fluidity in rabbits: a spin-label electron spin resonance study // *Ann. Clin. Sci.* 2002. V. 32. P. 399–403.
- Lopez de Frutos L., Cebolla J., Irun P. et al.* The erythrocyte osmotic resistance test as screening tool for cholesterol related lysosomal storage diseases // *Clin. Chim. Acta.* 2018. V. 480. P. 161–165.
- Madden J.L., Drakos S.G., Stehlik J. et al.* Baseline red blood cell osmotic fragility does not predict the degree of post-LVAD hemolysis // *ASAIO J.* 2014. V. 60. № 5. P. 524–528.
- Mairbaurl H.* Red blood cell in sports: effects of exercise and training on oxygen supply by red blood cells // *Front Physiol.* 2013. V. 12. № 4. P. 332.
- Mineo T., Sellitri F., Tacconi F. et al.* Erythrocyte osmotic resistance recovery after lung volume reduction surgery // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2014. V. 45. № 5. P. 870–875.
- Mohandas N., Gallagher P.G.* Red cell membrane: past, present, and future // *Blood.* 2008. V. 112. № 10. P. 3939–3948.
- Mondal M.S., Toshinai K., Ueno H. et al.* Characterization of obestatin in rat and human stomach and plasma, and its lack of acute effect on feeding behavior in rodents // *J. Endocrinol.* 2008. V. 198. № 2. P. 339–346.
- Nigra A.D., Monesterolo N.E., Rivelly J.F. et al.* Alteration of hemoreological parameters and tubulin content in erythrocytes from diabetic subjects // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2016. V. 74. № 2. P. 109–120. <http://onlab.info/sanguis/redcellindices6.html>
- Orbach A., Zelig O., Vedgar S., Barshtein G.* Biophysical and biochemical markers of red blood cell fragility // *Transfus. Med. Hemother.* 2017. V. 44. № 3. P. 183–187.
- Paraiso L.F., de Freitas M.V., Goncalves-E-Oliveira A.F. et al.* Influence of acute exercise on the human erythrocyte membrane // *Int. J. Sport. Med.* 2014. V. 35. P. 1072–1077.
- Paraiso L.F., Goncalves-E-Oliveira A.F., Cunha L.M. et al.* Effects of acuter and chronic exercise on the osmotic stability of erythrocyte membrane of competitive swimmers // *PLoS One.* 2017. V. 12. № 2. P. e0171318.
- Penha-Silva N., Firmio C.B., de Freitas Reis F.G. et al.* Influence of age on human erythrocyte membranes // *Mech. Ageing Dev.* 2007. V. 128. № 7–8. P. 444–449.
- Robinson Y., Cristancho E., Böning D.* Intravascular hemolysis and mean red cell age in athletes // *Med. Sci. Sport. Exerc.* 2006. V. 38. № 3. P. 480–483.
- Rodrigues R., Alves de Medeiros L., Moreira Cunha L. et al.* Correlations of the glycemic variability with oxidative stress and erythrocytes membrane stability in patients with type 1 diabetes under intensive treatment // *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2018. P. 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.01.031>. Epub 2018 Feb 8
- Senturk U.K., Gundus F., Kuru O. et al.* Exercise-induced oxidative stress affects erythrocytes in sedentary rats but not exercise-trained rats // *J. Appl. Physiol.* 2001. V. 91. № 3. P. 1999–2004.
- Senturk U.K., Gundus F., Kuru O. et al.* Exercise-induced oxidative stress leads hemolysis in sedentary but not trained humans // *J. Appl. Physiol.* 2005. V. 99. № 4. P. 1434–1441.
- Shiga T., Maeda N., Kon K.* Erythrocyte rheology // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1990. V. 10. № 1. P. 39–48.

- Sikora J., Orlov S.N., Furuya K., Grygorezyk R.* Hemolysis is a primary ATP-release mechanism in human erythrocytes // *Blood*. 2014. V. 124. № 13. P. 2150–2157.
- da Silva Garrote-Filho M., Bernaqrino-Neto M., Penha-Silva N.* Influence of erythrocyte membrane stability in atherosclerosis // *Curr. Atheroscler. Rep.* 2017. V. 19. № 4. P. 17.
- Singh A.K., Singh S., Gard G., Rizvi S.I.* Rapamycin mitigates erythrocyte membrane transport functions and oxidative stress during aging in rats // *Arch. Physiol. Biochem.* 2018. V. 124. № 1. P. 45–53.
- Singh S., Pandey K.B., Rizvi S.I.* Erythrocyte senescence and membrane transporters in young and old rats // *Arch. Physiol. Biochem.* 2016. V. 122. № 4. P. 228–234.
- Soares J.C., Folmer V., Da Rocha J.B., Nogueira CW.* Ebselen exhibits glycation-inhibiting properties and protects against osmotic fragility of human erythrocytes *in vitro* // *Cell. Biol. Int.* 2014. V. 38. № 5. P. 625–630. <https://sosudinfo.ru/krov/biochimichesky-analiz/>
- Sowemimo-Coker S.O.* Red blood cell hemolysis during processing // *Transfus. Med. Rev.* 2002. V. 16. № 1. P. 46–60.
- Tzounaras V.L., Anastasiadi A.T., Karadimas D.G. et al.* Temperature-dependent haemolytic propensity of CP-DA – 1 stored red blood cells vs whole blood – red cell fragility as donor signature on blood units // *Blood Transfus.* 2017. V. 15. № 5. P. 447–455. <https://tutknow.ru/medicina/4541-chto-takoe-gemoliz-krovi.html>  
<http://vlanamed.com/gemoliz/>
- Villagra J., Shiva S., Hunter L. et al.* Platelet activation in patients with sickle disease, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and nitric oxide scavenging by cell-free hemoglobin // *Blood*. 2007. V. 110. № 6. P. 2166–2172.
- Walski T., Chludzinska L., Komorowska M., Witkiewicz W.* Individual osmotic fragility distribution: a new parameter for determination of the osmotic properties of human red blood cells // *Biomed. Res. Int.* 2014. P. 162102.
- Zang J.V., Ren P.G., Avsian-Kretchmer O. et al.* Obestatin. A peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake // *Science*. 2005. V. 310. № 11. P. 996–999.

## Osmotic Resistance of Erythrocytes, Methods of Determination and Correction, Value at Different Pathologies

M. G. Golubeva\*

*Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

*\*e-mail: Mgolubeva46@mail.ru*

Received May 7, 2019

Revised May 7, 2019

Accepted May 7, 2019

The modern literature data and the results of own experiments on the mechanisms of changes in osmotic resistance of red blood cells are presented. Special emphasis is placed on the importance of this method in the study of cell aging, as well as blood storage for transfusion in blood banks. The need to study the osmotic resistance of red blood cells in the practice of clinical and sports medicine, as well as for research purposes to verify the effectiveness of drugs and regulatory peptides.

*Keywords:* erythrocytes, osmotic resistance, hemolysis, regulatory peptides