

А. В. Муравьев, В. Л. Комлев, П. В. Михайлов, А. А. Ахапкина, А. А. Муравьев

Деформация эритроцитов: роль в микроциркуляции

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение №14.В37.21.0214; 4.1695.2011 и при поддержке РФФИ, грант № 12-04-00550-а.

Целью этого исследования был анализ данных, приведенных в литературе, и результатов собственных научных исследований о важной микрореологической характеристике эритроцитов – их потоковой деформации – и ее роли в микроциркуляции и перфузии тканей. Было показано, что в основе эффективной деформируемости эритроцитов лежат свойства плазматической мембраны клетки, и в том числе малые сопротивления деформации сдвига и изгиба. Это в значительной мере связано с особой ролью структурных белков мембраны, и особенно белка полосы 4,1. Данный белок образует связи с компонентами подмембранного цитоскелета и интегральными белками самой мембраны. При фосфорилировании этих белков протеинкиназами происходит временное разъединение описанного тройного белкового комплекса, и клетки становятся пластичными, их деформируемость повышается. Высокая степень деформации эритроцитов в потоке лежит в основе эффекта Фареуса – повышения текучести крови в микрососудистом русле. В целом деформируемость эритроцитов положительно сказывается на эффективности кровотока как в относительно крупных сосудах, так и особенно в сосудах микроциркуляции.

Ключевые слова: реология крови, деформируемость эритроцитов, белки мембраны, микроциркуляция, перфузия тканей.

A. V. Muravyov, V. L. Komlev, P. V. Mikhaylov, A. A. Akharkina, A. A. Muravyov

Erythrocyte Deformation: the Role in Microcirculation

The aim of this study was to analyze the literature data about one of the important microrheological red blood cell (RBC) characteristics – RBC flow deformation and its role in microcirculatory alteration and the tissue perfusion. It has been shown that RBC deformability is connected with RBC membrane mechanical properties and including the small resistance to shear and bend deformations. One of the main causes of this phenomenon depends on membrane proteins and band 4.1R in particular. This protein makes up the bindings with the membrane cytoskeleton proteins and the integral ones. This ternary complex might be easy disconnected by the protein band 4.1R phosphorylation. As a result, the red blood cells are getting very deformable. The high level of cell flow deformation is the base of Fahraeus effect – an increase of the blood fluidity in the microvascular bed. Taken together whole research results can conclude that red cell deformability has a positive influence upon the blood flow in the relative big blood vessels and in the microcirculation as well.

Keywords: blood rheology, erythrocyte deformation, membrane proteins, microcirculation, tissue perfusion.

1. Введение

Для понимания функций системы кровообращения необходимы знания о реологии крови. Однако реологические характеристики различаются в разных сосудистых регионах. Следовательно, необходимо выделять, по крайней мере, макро- и микрореологические показатели (вязкость цельной крови, вязкоэластичность и деформируемость и агрегацию эритроцитов), свойственные течению крови в крупных сосудах (диаметр более 200 мкм) и в микрососудистом русле (менее 200 мкм).

Нормальная человеческая кровь или суспензия эритроцитов в плазме являются неньютоновскими жидкостями [1, 17]. Их вязкое течение хо-

рошо описывается моделью степенного закона [7]. Поскольку вязкость плазмы выше, чем изотонический раствор (вязкость плазмы в среднем составляет 1,8–2,2 мПа·с, а изотонического раствора – 1,10 мПа·с), более чем в полтора раза, то неньютоновские свойства цельной крови выражены в большей степени, чем суспензии эритроцитов (рис. 1А и 1Б).

Эритроциты непрерывно циркулируют в сосудах и должны иметь способность выдерживать интенсивные, пассивные деформации и проявлять сопротивление фрагментации. Эти две существенные характеристики клеток должны быть обеспечены высокодеформируемой мембраной и ее надежной стабильностью [8, 13, 24, 40, 50]. В связи

с этим важно заметить, что выраженное снижение вязкости суспензии эритроцитов с увеличением скорости сдвига (рис. 1Б) свидетельствует о существенной роли потоковой деформации эритроцитов в создании вязкого

сопротивления кровотоку в сосудистой системе, поскольку действие других реологических факторов исключалось (агрегация, гематокрит, вязкость суспензионной среды).

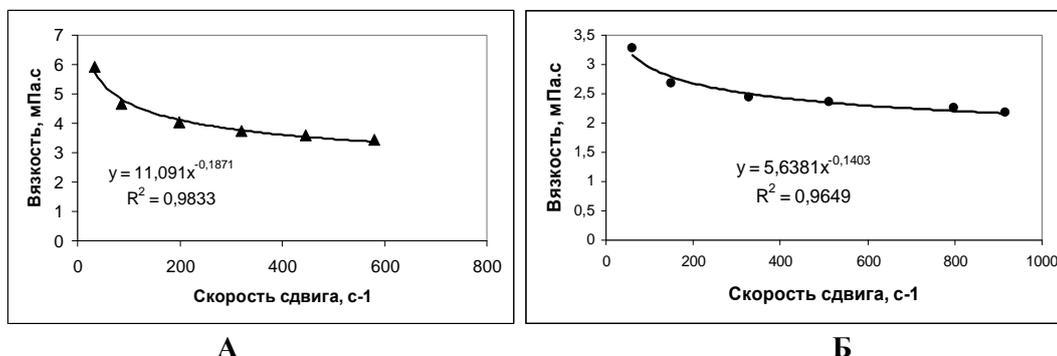


Рис. 1. Типичная кривая течения цельной крови (А) и суспензии эритроцитов (гематокрит 40 %) в изотоническом растворе NaCl при разных скоростях сдвига, выраженные моделью неньютоновской жидкости степенного закона: $y = ax^n$ [6]

В целом можно заключить, что нормальная человеческая кровь ведет себя как неньютоновская жидкость, проявляющая сдвиговое разжижение (снижение вязкости с увеличением скорости или напряжения сдвига). Это обусловлено двумя процессами [9, 48]: 1) формированием *агрегатов эритроцитов* при низкой сдвиговой скорости, которые полностью распадаются при скоростях сдвига порядка 80–120 с-1 и 2) потоковой *деформацией эритроцитов* вместе с их ориентацией вдоль линии потока при средних и особенно высоких скоростях сдвига (выше 50 с⁻¹).

полнять при этом транспортную функцию в течение долгого периода жизни (около 4 месяцев) в системе кровообращения. Биологические свойства и поведение эритроцитов, как и клеток других типов, имеет биохимическую и молекулярную основу. Поддержание формы и деформируемость эритроцитов зависят от структурной и функциональной интеграции мембранных белков [34]. Эти белки оформлены в комплексы двух типов: *первые* – интегральные белки мембраны, встроенные в липидный бислой; *вторые* – формируют сеть – подмембранный цитоскелет (рис. 2). Эта сеть из филаментов, главный компонент которой – мультифункциональный белок *спектрин* [16] – образует трехмерную структуру, что в значительной мере определяет механические свойства эритроцитов, в том числе их деформируемость в кровеносных сосудах и капиллярах особенно [3, 14].

2. Микрореологические свойства эритроцитов человеческой крови

2.1 Структура мембраны эритроцитов и ее роль в деформируемости клеток

Необычная комбинация мембранных свойств позволяет эритроцитам подвергаться большим деформациям без фрагментации мембраны и вы-

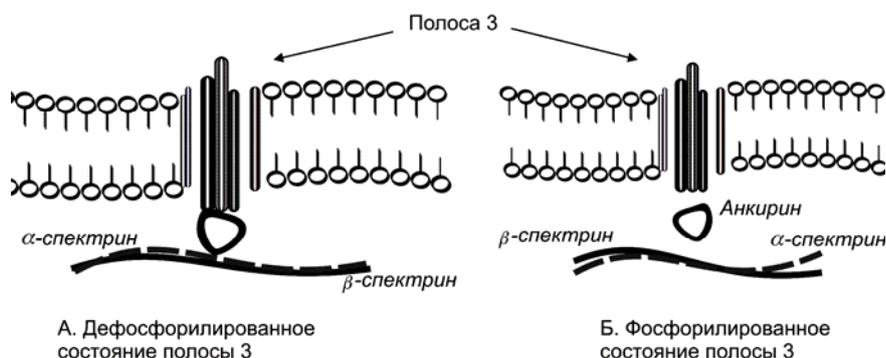


Рис. 2. Фрагмент мембраны эритроцита: композиция интегральных белков мембраны (белок полосы 3, примерно 1 миллион копий этой молекулы на эритроцит) и цитоскелета (белок спектрин)

2.2 Роль разных факторов, определяющих деформируемость эритроцитов

Упрощенно эритроциты часто рассматривают как биологические «контейнеры» гемоглобина для эффективного транспорта и обмена кислорода и двуокси углерода в тканевых микрорайонах тела [18]. Каждая из пяти миллионов клеток в миллилитре крови более 1000 раз в день проходит пути микроциркуляции в течение примерно 120 дней жизни эритроцита. При каждом прохождении через микрососуды, диаметры которых на четверть меньше размеров самой клетки, эритроциты со средним диаметром 8 мкм должны подвергаться большим внешним напряжениям сдвига [2, 4, 35]. Деформируемость эритроцитов является важным фактором, определяющим продолжительность их жизни, она зависит от трех ключевых параметров: 1) формы клетки, 2) внутренней вязкости и 3) мембранных механических свойств [10, 49].

При оценке влияния концентрации внутриклеточного гемоглобина на деформируемость эритроцитов были измерены мембранный модуль сдвиговой эластичности, время восстановления формы эритроцитов, разделенных на молодые и старые клетки, а также исследованы тени эритроцитов. Установлено, что модуль эластичности у молодых и старых эритроцитов был одинаковым, а время восстановления было больше у старых клеток. Вязкость их мембран была сходной с данными интактных клеток. Отношение вязкости мембран старых/молодых эритроцитов было меньше у теней, чем у интакт-

ных клеток. Это свидетельствует о том, что вязкость мембран больше у старых эритроцитов. Полагают, что такая разница в вязкоэластичности мембран клеток разного возраста объясняется их старением. Последнее ведет к менее эффективному выполнению ими транспортных задач [38].

Сдвиговые силы (зависящие от скорости сдвига и вязкости внеклеточной жидкости) и гематокрит влияют на деформацию эритроцитов. Повышение вязкости суспензии при высоком гематокрите в основном ведет к увеличению деформации эритроцитов. При определенной величине гематокрита наблюдается снижение деформации [29]. Исследование на моделях разбавленных суспензий эритроцитов позволяет оценить вклад деформируемости эритроцитов в текучесть таких суспензий. Она повышалась вследствие сдвигового разжижения, связанного с деформацией и ориентацией клеток в потоке [20].

Первичным внешним фактором, определяющим деформацию эритроцитов в целом, является отношение площади поверхности к объему клетки (S/V). Это соотношение может свидетельствовать о минимальном диаметре трубки (сосуда), в которую эритроцит входит без разрыва [3]. На основе измерения времени восстановления формы эритроцита после деформации (порядка 0,1 с) был рассчитан коэффициент поверхностной (мембранной) вязкости (табл. 1), который оказался равным 10^{-3} дин с/см [18, 23, 39].

Таблица 1

Микрореологические свойства зрелых эритроцитов

Параметр	Величина	Примечания
Объем эритроцита (MCV)	90 фл	
Площадь поверхности мембраны	140 мкм ²	Имеется примерно 40 % «избытка» площади поверхности клетки над ее объемом. Это позволяет изменять форму клетки без растяжения мембраны
Вязкость «материала» мембраны эритроцита	0,7 мПа·с	Эта величина больше вязкости простых бислоев липидов. Приблизительно, можно представить в терминах общей вязкости материала, разделив данную величину на толщину мембраны клетки
Вязкость цитоплазмы эритроцита	6,4 мПа·с	Сильно зависит от концентрации гемоглобина в клетке (MCHC)
Мембранный модуль сдвиговой эластичности	6,0 мН/м	Отношение приложенного к клетке напряжения и степень растяжения мембраны при линейном растяжении. Это связано с эластическими свойствами мембранного цитоскелета, что обеспечивает эритроциту уникальное эластическое поведение
Модуль изгибной эластичности	$1,6 \times 10^{-19}$ Н·м	Определяет величину сопротивления изгибу клетки в отсутствие удлинения
Модуль эластичности при сжатии	300–600 мН·м	Высокое значение модуля показывает

тии/растяжении поверхности мембраны клетки		сильную степень сопротивления материала мембраны растяжению. Возможно только лишь на 2% выполнить растяжение мембраны до ее разрыва
Время восстановления формы клетки после ее деформации (после растяжения)	0,12 с	Определяется отношением вязкости мембраны к модулю сдвиговой эластичности
Время восстановления после деформации изгиба клетки	0,31 с	Определяется отношением цитоплазматической вязкости к модулю эластичности сдвига

По мнению ряда авторов, течение эритроцитов в микрососудах и их адаптация в потоке являются следствием скорее вязкой, чем эластической деформации [19, 29, 44]. Адаптация по типу поведения капли жидкости зависит от: а) текучести цитоплазмы и б) отношения площади поверхности клетки к ее объему с учетом того, что имеется избыток поверхности над объемом (примерно на 40 %). Это позволяет эритроцитам проявлять деформацию без изменения площади поверхности.

Способность эритроцитов к деформации является существенным свойством, позволяющим им эффективно циркулировать в системе кровообращения. Однако степень реологических нарушений, которые могут заметно сказываться на кровотоке, не совсем выяснена. Так, например, в прижизненных условиях при старении повышение внутренней вязкости, вязкости мембран эритроцитов и прирост их индекса сферичности не являются причиной снижения деформации клеток в целом [39]. Существует мнение о том, что обнаруживаемые в клинических исследованиях небольшие изменения клеточной реологии вряд ли могут оказывать существенное влияние на сопротивление кровотоку в системе микроциркуляции [37].

Таким образом, при рассмотрении микрореологических параметров в физиологических и патологических условиях необходимо в первую очередь оценивать деформируемость эритроцитов. Она в свою очередь определяется: внутренней вязкостью клеток, отношением площадь/объем и мембранными механическими свойствами. При многих заболеваниях изменяются все три характеристики деформируемости эритроцитов [47].

2.3 Фосфорилирование белков мембраны эритроцитов разными протеинкиназами и деформируемость эритроцитов

Исследования белкового профиля зрелых человеческих эритроцитов показали, что их протеом включает 340 мембранных белков и 252 растворимых белка цитоплазмы клеток [42]. При

этом 29 белков выполняют функцию трансдукции сигнала в эритроците. Ряд белков представляет собой протеинкиназы (ПК), кроме традиционных протеинкиназ С и А (ПКС и ПКА), имеются еще три трионин-сериновые ПК, а также тирозиновые киназы (ТПК) и фосфатазы (ТПФ). Известно также, что человеческие эритроциты содержат цитозольную протеинкиназу (ПКС), фосфорилирующую белки цитоскелета и белки полосы 4,1, полосы 4,9 и аддуцин [21]. Несмотря на простоту строения, зрелые эритроциты сохранили многие элементы молекулярных сигнальных путей, и в том числе ферменты, рецепторы и ионные каналы [33, 34]. Из ферментных комплексов, имеющих отношение к деформируемости, можно выделить растворимую мембраносвязанную казеинкиназу. Идентификация пептидных комплексов показала наличие тирозиновых остатков, по которым возможно фосфорилирование спектрина [15]. Исследовано фосфорилирование белка полосы 4,1 мембраны эритроцитов мембранной киназой и казеинкиназой А. Результаты исследования свидетельствуют о том, что фосфорилирование полосы 4,1 может вести к релаксации спектринового цитоскелета и формированию более пластичной мембранной структуры вместе с повышением деформируемости клетки в целом [22]. Следовательно, белок полосы 4,1 является существенным компонентом мембраны эритроцита. Он служит для поддержания формы клетки и ее механических свойств, таких как деформируемость и стабильность. Ключевая роль полосы 4,1 проявляется в его множественных белок-белковых взаимодействиях: латеральных – со спектрин/актиновой сетью и вертикальных – с цитоплазматическими доменами трансмембранных белков: гликофорин С (ГФС), полоса 3 (анионный обменник 1, АО1) и CD44. Полоса 4,1 способствует формированию тройного комплекса с ГФС и р55 через 30 kDa мембранно-связывающий домен. Имеются данные о том, что критическую роль в регуляции вышеописанных взаимодействий 30 kDa домена белка 4,1 играет комплекс Ca^{2+} – кальмодулин

[40]. Эти сведения позволяют лучше понять, как основной домен белка полосы 4,1 взаимодействует с белками мембраны и участвует в регуляции формы клетки в ответ на изменения концентрации внеклеточного Ca^{2+} [26].

Важными для понимания регуляции микроциркуляции являются исследования деформации эритроцитов, ассоциированных с изменением концентрации АТФ в клетках. Степень деформируемости оценивали на основе сравнения вязкости при двух скоростях сдвига; 90 и 450 с-1. Измеряли концентрацию АТФ в плазме, свободной от тромбоцитов. Блокировали выход из эритроцитов АТФ при помощи дипиридамола [12]. Отсутствие тромбоцитов или обработка эритроцитов аспирином и/или дипиридамолом предупреждали повышение жесткости клеток, наблюдаемое после потоковой деформации. Более того, значительный прирост деформируемости был установлен, когда клетки подвергали обработке дипиридамолом или при комбинировании этого препарата с аспирином. При этом было выявлено снижение уровня АТФ в плазме. Таким образом, потоковое напряжение ведет к снижению деформируемости эритроцитов, вероятно, из-за активации тромбоцитов. Обработка дипиридамолом, одним или в сочетании с аспирином, устраняла этот эффект. При механической деформации или снижении напряжения O_2 человеческие эритроциты выделяют АТФ, что становится причиной образования NO эндотелиальными клетками сосудов [12].

Таким образом, эритроциты участвуют в регуляции местного сосудистого сопротивления и тем самым обеспечивают эффективную доставку кислорода в тканевые микрорайоны. В передаче сигналов для выделения АТФ клетками используются гетеротримерные белки G (G_i является критическим компонентом этого сигнального пути). Важно иметь в виду, что стимуляция G_i приводит к активации аденилатциклазы и освобождению АТФ из эритроцитов. При этом обнаружено, что у лиц с диабетом 2 типа наблюдается дефицит освобождения АТФ из-за снижения экспрессии белка G альфа 12 [46]. Было установлено, что применение циклоспорина (ЦС, 10 мг/кг/день, в течение 7 дней морским свинкам) приводит к снижению деформируемости эритроцитов *in vivo*. При этом внутриклеточная концентрация Ca^{2+} была выше в группе, получавшей ЦС. Комбинирование ЦС с пентоксифиллином (100 мг/кг/сутки) не предупреждало ухудшения деформируемости эритроцитов под влиянием ЦС. Полагают, что действие этого препарата связано с активацией кальциевого сигнального пути [9].

3. Микроциркуляция и деформируемость эритроцитов

В капиллярном русле эритроциты, как правило, перед входом в сосуды имеют размеры большие, чем диаметр обменных капилляров [4, 45]. При исследовании течения суспензии эритроцитов в трубке определение вязкости проводили на основе отношения напряжения сдвига к скорости сдвига. Было показано, что вязкость суспензии снижалась на 75 % при увеличении скорости сдвига с 0,1 до 1000 с⁻¹. Сравнение этого сдвигового «разжижения» крови в присутствии или отсутствии агрегации эритроцитов показало, что 75 % снижения вязкости связано именно с агрегацией. При этом на 25 % изменения вязкости крови связаны с потоковой деформацией клеток. В свою очередь это деформационное течение сильно зависит от гематокрита в сосудах диаметром 20–50 мкм [30]. Другая ситуация наблюдается в обменных капиллярах. Деформируемость эритроцитов оказывает сильное влияние на эффективность входа клеток в капилляры [28]. Кроме того, было установлено, что при выраженном снижении деформируемости эритроцитов (измерено при помощи фильтрации через 5,0 мкм нуклеопоровые фильтры) может нарушаться локальная перфузия тканей [31].

Микрореологические свойства клеток крови в наибольшей степени могут проявляться в сосудах микроциркуляции [45]. Здесь движение крови нельзя полностью описывать моделью непрерывной среды, поскольку оно больше похоже на двухфазный поток деформированных эритроцитов и плазмы [5]. При движении крови по сосудам, диаметр которых меньше 200 мкм, проявляется феномен Фареуса – Линдквиста [17]. Это связано с тем, что кажущаяся вязкость крови является функцией диаметра трубки в диапазоне его величин от 200 до 20 мкм. С другой стороны, в капиллярах, диаметр которых меньше 5 мкм, эритроциты движутся один за другим, заполняя весь просвет сосуда (рис. 3). При этом важно иметь в виду, что эритроциты могут проходить через микроканалы с диаметром 2,7 мкм без разрыва мембраны [3, 5].

Эритроциты не единственные клетки крови, проявляющие эффект Фареуса. Лейкоциты и тромбоциты тоже демонстрируют подобное поведение в потоке, однако имеются существенные количественные различия. При этом лейкоциты, например, распределены в потоке радиально в зависимости от скоростей сдвига: при высоких – они стремятся занять осевую позицию, тогда как при низких скоростях сдвига, в условиях выраженной агрегации эритроцитов, они смещаются к сосудистой стенке [4].

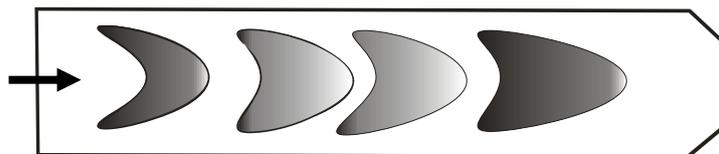


Рис. 3. Схема движения эритроцитов в капилляре, диаметр которого меньше диаметра самих клеток; стрелкой показано направление течения

Что касается тромбоцитов, то они всегда находятся в высокой концентрации вблизи стенки сосуда. При низких скоростях сдвига их концентрация в сосуде в 1,3–1,4 раза выше той, что наблюдается в крови, вытекающей из сосуда. Однако при высокой скорости сдвига это величина составляет только 1,1 раза [2, 5]. Из вышесказанного можно заключить, что поведение клеток крови разного типа и разного размера в потоке проявляется в том, чтобы частицы большего диаметра располагались в центральной части потока, а наименьшего – в его пристеночной зоне. При высокой скорости сдвига (скорости течения) эритроциты и лейкоциты находятся в зоне с наиболее быстрым течением. При низкой скорости течения, когда эритроциты образуют агрегаты и становятся наиболее крупными частицами потока, они смещаются на центрально-осевую позицию в сосуде (с быстрым течением), а лейкоциты – к стенке сосуда.

Для изучения вклада деформируемости эритроцитов в эффективность микрокровотока ее можно снизить путем инкубирования клеток в 2 % растворе формальдегида. В эксперименте закрепленные таким способом эритроциты попадают в общий кровоток бедренной артерии животного (свинки, $n=26$). Важно заметить, что сосуды этой области были предварительно расширены аденозином. После добавления «закрепленных» эритроцитов перфузионное давление и кровоток были значительно снижены в течение 15 минут, но через 30 минут вернулись к исходному уровню. Кроме того, было установлено, что почти 1/3 закрепленных эритроцитов (определено при помощи радиоактивной метки) была задержана в системе микроциркуляции, тогда как интактных клеток только 3 %. Снижение кровотока при инфузии закрепленных эритроцитов не восстанавливалось при блокаде альфа-адренорецепторов. Это указывает на то, что адренергически стимулированный спазм не был ответственным за изменения кровотока. Аспирин, 35 мг/кг внутривенно, полностью предупредил снижение кровотока, несмотря на отсутствие изменений числа задержанных клеток

[12]. Таким образом, делают вывод о том, что эритроциты со сниженной деформируемостью, введенные в систему кровообращения, являются причиной выраженного, но транзиторного снижения кровотока. При этом редукция кровотока, вероятно, не была прямо связана с задержкой в микрососудистом русле недеформирующихся клеток, а могла быть опосредована агрегацией тромбоцитов или высвобождением потенциальных вазоконстрикторных субстанций из тромбоцитов или эндотелиальных клеток.

Еще один важный аспект деформации эритроцитов в микрососудах может быть рассмотрен далее. Под влиянием напряжения сдвига или гипоксии в эритроцитах активируются механизмы выделения АТФ, через анионный канал [25, 46]. Поступивший в плазму АТФ гидролизуется до АДФ, и последний связывается с рецепторами типа P_2Y_{13} эндотелиальных клеток. Это приводит к выделению ими оксида азота (NO), который способствует дилатации рядом расположенных артериол [41]. Таким образом, эритроциты участвуют в регуляции местного сосудистого сопротивления и обеспечивают эффективную доставку кислорода в тканевые микрорайоны. В передаче сигналов для выделения АТФ клетками участвуют гетеротримерные белки G (G_i является критическим компонентом этого сигнального пути). Важно иметь в виду, что стимуляция G_i приводит к активации аденилатциклазы и освобождению АТФ из эритроцитов [46].

Заключение

Анализ литературных данных показал, что деформируемость эритроцитов является важной микрореологической характеристикой клеток этого типа и обеспечивает им эффективный пассаж через сосуды, диаметр которых меньше размера клеток. Если в мелких артериях, артериолах и венах кровоток может существенно меняться при регуляторной констрикции и дилатации, то в обменных капиллярах это невозможно из-за отсутствия мышечных элементов в стенке сосудов этого типа. Поэтому потоковая деформация эритроцитов здесь имеет решающее значение для перфузии тканей и

доставки клеткам всего спектра веществ, необходимых для метаболизма. При реализации этой функции эритроциты имеют возможность отвечать на вне- и внутриклеточные сигнальные молекулярные стимулы, изменяя степень своей деформируемости и транспортного потенциала.

Эритроциты являются активными участниками паракринных регуляторных реакций, влияющих на тонус артериол и на микрососудистую перфузию тканей в целом. Это связано с их способностью продуцировать АТФ при снижении напряжения кислорода в среде и повышении напряжения сдвига на мембране клеток. Выделение

АТФ эритроцитами повышается в условиях более эффективной деформируемости клеток. Общесигнальный каскад при этом включает и активацию выделения оксида азота (NO) эндотелиальными клетками, а также гуанилатциклазный механизм релаксации гладкомышечных клеток артериол. Следовательно, можно полагать, что эритроцит является своего рода сенсором гипоксии и изменения напряжения сдвига в сосудистой системе и инициатором выделения первой сигнальной молекулы (АТФ) регуляторного каскада изменения тонуса артериол.

Библиографический список

1. Галенок, В. А. Гемореология при нарушениях углеводного обмена [Текст] / В. А. Галенок, Е. В. Гостинская, В. Е. Диккер. – Новосибирск : Наука, 1987. – 258 с.
2. Джонсон, П. Периферическое кровообращение [Текст] / П. Джонсон. – М. : Медицина, 1982. – 396 с.
3. Ивенс, И., Скейлак, Р. Механика и термодинамика биологических мембран [Текст] / И. Ивенс, Р. Скейларк. – М. : Мир, 1982. – 304 с.
4. Каро, К. Механика кровообращения [Текст] / К. Каро [и др.]. – М. : Мир, 1981. – 623 с.
5. Левтов, В. А. Реология крови [Текст] / В. А. Левтов, С. А. Регирер, Н. Х. Шадрина. – М. : Медицина, 1982. – 272 с.
6. Муравьев, А. В., Чепоров, С. В. Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови) [Текст] / А. В. Муравьев, С. В. Чепоров. – Ярославль : Изд-во ЯГПУ, 2009. – 178 с.
7. Уилкинсон, У. Л. Неньютоновские жидкости [Текст] / У. Л. Уилкинсон. – М. : Мир, 1964. – 216 с.
8. Arduini A., Rossi M., Mancinelli G., Belfiglio M., Scurti R., Radatti G., Shohet S.B. Effect of L-carnitine and acetyl-L-carnitine on the human erythrocyte membrane stability and deformability // *Life Sci.* – 1990. – Vol. 47. – 2395–2400.
9. Başkurt O. K., Sentürk U. K., Dayan N., Küçükataş V., Isbir M., Erkiliç A., Kaputlu I. Cyclosporin A affects red blood cell deformability in vivo but not in vitro in guinea pig // *J Pharmacol Exp Ther.* – 1995. – Vol. 274. – 438–442.
10. Berga L., Dolz J., Vives-Corróns J.L., Feliu E., Rozman C. Viscometric methods for assessing red cell deformability and fragmentation // *Biorheology Suppl.* 1984. – Vol. 1. – 297–301.
11. Boivin P. Molecular interactions of membrane proteins and erythrocyte deformability // *Pathol Biol (Paris).* – 1984. – Vol. 32. – 717–735.
12. Bozzo J., Hernández M. R., Ordinas A. Reduced red cell deformability associated with blood flow and platelet activation: improved by dipyridamole alone or combined with aspirin // *Cardiovasc Res.* – 1995. – Vol. 30. – 725–730.
13. Chasis J. A., Mohandas N. Erythrocyte membrane deformability and stability: two distinct membrane properties that are independently regulated by skeletal protein associations // *J. Cell. Biol.* – 1986. – Vol. 103. – 343–350.
14. Chien S., Sung L. P. Molecular basis of red cell membrane rheology. Part I. *Biorheology* // 1990. – Vol. 27. – 327–344.
15. Clari G., Michielin E., Moret V. Interrelationships between protein kinases and spectrin phosphorylation in human erythrocytes // *Biochim Biophys Acta.* – 1981. – Vol. 640. – 240–251.
16. Cohen C. M., Foley S. F. Biochemical characterization of complex formation by human erythrocyte spectrin, protein 4.1, and actin // *Biochemistry.* – 1984. – 4.–23(25). – 6091-6098.
17. Cokelet G. B., Meiselman H. J. Rheological comparison of hemoglobin Solutions and erythrocyte suspensions // *Science.* – 1968. – Vol. 162. – 275–277.
18. Cooke B. M., Lim C. T. Mechanical and adhesive properties of healthy and diseased red blood cells // *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics.* – 2007. – IOS Press. – Amsterdam. – 455 с.
19. Dintenfass L. Theoretical aspects and clinical applications of the blood viscosity equation containing a term for the internal viscosity of the red cell // *Blood Cells.* – 1977. – Vol. 3. – 367–374.
20. Drochon A., Barthes-Biesel D., Lacombe C., Lelievre J. C. Determination of the red blood cell apparent membrane elastic modulus from viscometric measurements // *J Biomech Eng.* – 1990. – Vol. 112. – 241–249.
21. Govekar R. B., Zingde S. M. Protein kinase C isoforms in human erythrocytes // *Ann Hematol.* – 2001. – Vol. 80(9). – 531–534.
22. Eder P. S., Soong C. J., Tao M. Phosphorylation reduces the affinity of protein 4.1 for Spectrin // *Biochemistry.* – 1986. – Vol. 8. – 1764–1770.
23. Evans E. A. Structure and deformation properties of red blood cells: concepts and quantitative methods // *Methods Enzymol.* – 1989. – Vol. 173. – 3–35.

24. Evans E., Hochmuth R. M. A solid-liquid composite model of the red cell membrane // *J. Membr. Biol.* – 1977. – Vol. 30. – 351–362.
25. Fischer D. J., Torrence N. J., Sprung R. J., Spence D. M. Determination of erythrocyte deformability and its correlation to cellular ATP release using microbore tubing with diameters that approximate resistance vessels in vivo // *Analyt.* – 2003. – Vol. 128. – 1163–1168.
26. Han B. G., Nunomura W., Takakuwa Y., Mohandas N., Jap B. K. Protein 4.1R core domain structure and insights into regulation of cytoskeletal organization // *Nat Struct Biol.* – 2000. – Vol. 7. – 871–875.
27. Hochmuth R. M. Measuring the mechanical properties of individual human blood cells // *J Biomech Eng.* – 1993. – Vol. 115. – 515–519.
28. Kaul D. K., Fabry M. E. In vivo studies of sickle red blood cells // *Microcirculation.* – 2004. – Vol. 11. – 153–165.
29. Kon K., Maeda N., Shiga T. Erythrocyte deformation in shear flow: influences of internal viscosity, membrane stiffness, and hematocrit // *Blood.* – 1987. – Vol. 69. – 727–734.
30. Lipowsky H. H., Usavi S., Chien S. In vivo measurement of “apparent viscosity” and microvessel hematocrit in mesentery of the cat // *Microvasc. Res.* – 1980. – Vol. 19. – 297–319.
31. Lipowsky H. H., Cram L. E., Justice W., Eppihimer M. J. Effect of erythrocyte deformability on in vivo red cell transit time and hematocrit and their correlation with in vitro filterability // *Microvasc Res.* – 1993. – Vol. 46. – 43–64.
32. Marchesi V. T. The red cell membrane skeleton: recent progress // *Blood.* – 1983. – Vol. 61. – P. 1–11.
33. Mohandas N. Molecular bases for red cell membrane viscoelastic properties // *Biochim. Soc. Trans.* – 1992. – Vol. 20. – 776–782.
34. Mohandas N., Chasis J. A. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids // *Semin Hematol.* – 1993. – Vol. 30(3). – 171–192.
35. Manno S., Takakuwa Y., Nagao K. and Mohandas N. Modulation of erythrocyte membrane mechanical function by beta-spectrin phosphorylation and dephosphorylation // *J Biol Chem.* 1995. – Vol. 270. – 5659–5665.
36. Miles D. Houslay and W. Kolch. Cell-Type Specific Integration of Cross-Talk between Extracellular Signal-Regulated Kinase and cAMP Signaling // *Mol. Pharm.* – 2000. – Vol. 58. – Issue 4. – 659–668.
37. Nash G. B. Red cell mechanics: what changes are needed to adversely affect in vivo circulation // *Biorheology.* – 1991. – Vol. 28. – 231–239.
38. Nash G. B., Meiselman H. J. Red cell and ghost viscoelasticity. Effects of hemoglobin concentration and in vivo aging // *Biophys J.* – 1983. – Vol. 43. – 63–73.
39. Neu B., Sowemimo-Coker S. O., Meiselman H. J. Cell-cell affinity of senescent human erythrocytes // *Biophys J.* – 2003. – 85. – 75–84.
40. Nunomura W., Takakuwa Y. Regulation of protein 4.1R interactions with membrane proteins by Ca²⁺ and calmodulin // *Front Biosci.* – 2006. – Vol. 1. – 1522–539.
41. Olearczyk J. J., Stephenson A. H., Lonigro A. J., Sprague R. S. NO inhibits signal transduction pathway for ATP release from erythrocytes via its action on heterotrimeric G protein Gi // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – H748–754.
42. Pasini E. M., Kirkegaard M., D. Salerno, Mortensen P., Lutz H.U., Thomas A.W., and Mann M. Deep coverage mouse red blood cell proteome. A first comparison with the human red blood cell // *Molecular & Cellular Proteomics.* – 2008. – Vol. 7. – 1317–1330.
43. Pfafferoth C., Nash G. B., Meiselman H. J. Red blood cell deformation in shear flow. Effects of internal and external phase viscosity and of in vivo aging // *Biophys J.* 1985. – Vol. 47(5). – 695–704.
44. Schmid-Schönbein H., Gaetgens P. What is red cell deformability? *Scand J Clin Lab Invest Suppl* // 1981. – Vol. 156. – 13–26.
45. Secomb T. W. Flow – Dependent Rheological properties of blood in capillaries // *Microvasc. Res.* – 1987. – Vol. 34. – 46–58.
46. Sprague R., Stephenson A., Bowles E., Stumpf M., Ricketts G., Lonigro A. Expression of the heterotrimeric G protein Gi and ATP release are impaired in erythrocytes of humans with diabetes mellitus // *Adv Exp Med Biol.* – 2006. – Vol. 588. – 207–216.
47. Stoltz J. F. Red blood cell microrheology (clinical and pharmacological applications) // *Ric Clin Lab.* – 1983. – Vol. 13, Suppl 3. – 53–70.
48. Stoltz J. F., Donner M. Red blood cell aggregation: measurements and clinical applications // *Turkish. J. Med, Sci.* – 1991. – Vol. 15. – 26–39.
49. Stuart J., Nash G. B. Red cell deformability and haematological disorders // *Blood Rev.* – 1990. – Vol. 4. – 141–147.
50. Takakuwa Y. Mohandas N. Ishibashi T. Regulation of red cell membrane deformability and stability by skeletal protein network // *Biorheology.* – 1990. – Vol. 27. – 357–65.
51. Takakuwa Y. Regulation of red cell membrane protein interactions: implications for red cell function // *Curr Opin Hematol.* – 2001. – Vol. 8. – 80–84.

Библиографический список

1. Galenok, V. A. Gemoreologiya pri narusheniyakh uglevodnogo obmena [Tekst] / V. A. Galenok, Ye. V. Gostinskaya, V. Ye. Dikker. – Novosibirsk : Nauka, 1987. – 258 s.

2. Dzhonson, P. Perifericheskoye krovoobrashcheniye [Tekst] / P. Dzhonson. – M. : Meditsina, 1982. – 396 s.
3. Ivens, I., Skeylak, R. Mekhanika i termodinamika biologicheskikh membran [Tekst] / I. Ivens, R. Skeylark. – M. : Mir, 1982. – 304 s.
4. Karo, K. Mekhanika krovoobrashcheniya [Tekst] / K. Karo [i dr.]. – M. : Mir, 1981. – 623 s.
5. LevtoV, V. A. Reologiya krovi [Tekst] / V. A. LevtoV, S. A. Regirer, N. Kh. Shadrina. – M. : Meditsina, 1982. – 272 s.
6. Murav'yev, A. V., Cheporov, S. V. Gemoreologiya (eksperimental'nyye i klinicheskiye aspekty reologii krovi) [Tekst] / A. V. Murav'yev, S. V. Cheporov. – Yaro-slavl' : Izd-vo YAGPU, 2009. – 178 s.
7. Uilkinson, U. L. Nen'yutonovskiye zhidkosti [Tekst] / U. L. Uilkinson. – M. : Mir, 1964. – 216 s.
8. Arduini A., Rossi M., Mancinelli G., Belfiglio M., Scurti R., Radatti G., Shohet SB Effect of L-carnitine and acetyl-L-carnitine on the human erythrocyte membrane stability and deformability // *Life Sci.* – 1990. – Vol. 47. – 2395–2400.
9. Başkurt O. K., Sentürk U. K., Dayan N., KüçükataV V., Isbir M., Erkiliç A., Kaputlu I. Cyclosporin A affects red blood cell deformability in vivo but not in vitro in guinea pig // *J Pharmacol Exp Ther.* – 1995. – Vol. 274. – 438–442.
10. Berga L., Dolz J., Vives-Corrans JL, Feliu E., Rozman C. Viscometric methods for assessing red cell deformability and fragmentation // *Biorheology Suppl.* 1984. – Vol. 1. – 297–301.
11. Boivin P. Molecular interactions of membrane proteins and erythrocyte deformability // *Pathol Biol (Paris).* – 1984. – Vol. 32. – 717–735.
12. Bozzo J., Hernández M. R., Ordinas A. Reduced red cell deformability associated with blood flow and platelet activation: improved by dipyridamole alone or combined with aspirin // *Cardiovasc Res.* – 1995. – Vol. 30. – 725–730.
13. Chasis J. A., Mohandas N. Erythrocyte mem-brane deformability and stability: two distinct membrane properties that are independently regulated by skeletal protein associations // *J. Cell. Biol.* – 1986. – Vol. 103. – 343–350.
14. Chien S., Sung L. P. Molecular basis of red cell membrane rheology. Part 1. *Biorheology* // 1990. – Vol. 27. – 327–344.
15. Clari G., Michielin E., Moret V. Interrelationships between protein kinases and spectrin phosphorylation in human erythrocytes // *Biochim Biophys Acta.* – 1981. – Vol. 640. – 240–251.
16. Cohen C. M., Foley S. F. Biochemical characterization of complex formation by human erythrocyte spectrin, protein 4.1, and actin // *Biochemistry.* – 1984. – 4.– 23(25). – 6091–6098.
17. Cokelet G. B., Meiselman H. J. Rheological comparison of hemoglobin Solutions and erythrocyte suspensions // *Science.* – 1968. – Vol. 162. – 275–277.
18. Cooke B. M., Lim C. T. Mechanical and adhesive properties of healthy and diseased red blood cells // *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics.* – 2007. – IOS Press. – Amsterdam. – 455 s.
19. Dintenfass L. Theoretical aspects and clinical applications of the blood viscosity equation containing a term for the internal viscosity of the red cell // *Blood Cells.* – 1977. – Vol. 3. – 367–374.
20. Drochon A., Barthes-Biesel D., Lacombe C., Lelievre J. C. Determination of the red blood cell apparent membrane elastic modulus from viscometric measurements // *J Biomech Eng.* – 1990. – Vol. 112. – 241–249.
21. Govekar R. B., Zingde S. M. Protein kinase C isoforms in human erythrocytes // *Ann Hematol.* – 2001. – Vol. 80(9). – 531–534.
22. Eder P. S., Soong C. J., Tao M. Phosphorylation reduces the affinity of protein 4.1 for Spectrin // *Biochemistry.* – 1986. – Vol. 8. – 1764–1770.
23. Evans E. A. Structure and deformation properties of red blood cells: concepts and quantitative methods // *Methods Enzymol.* – 1989. – Vol. 173. – 3–35.
24. Evans E., Hochmuth R. M. A solid-liquid composite model of the red cell membrane // *J. Membr. Biol.* – 1977. – Vol. 30. – 351–362.
25. Fischer D. J., Torrence N. J., Sprung R. J., Spence D. M. Determination of erythrocyte deformability and its correlation to cellular ATP release using microbore tubing with diameters that approximate resistance vessels in vivo // *Analyst.* – 2003. – Vol. 128. – 1163–1168.
26. Han B. G., Nunomura W., Takakuwa Y., Mohandas N., Jap B. K. Protein 4.1R core domain structure and insights into regulation of cytoskeletal organization // *Nat Struct Biol.* – 2000. – Vol. 7. – 871–875.
27. Hochmuth R. M. Measuring the mechanical properties of individual human blood cells // *J Biomech Eng.* – 1993. – Vol. 115. – 515–519.
28. Kaul D. K., Fabry M. E. In vivo studies of sickle red blood cells // *Microcirculation.* – 2004. – Vol. 11. – 153–165.
29. Kon K., Maeda N., Shiga T. Erythrocyte deformation in shear flow: influences of internal viscosity, membrane stiffness, and hematocrit // *Blood.* – 1987. – Vol. 69. – 727–734.
30. Lipowsky H. H., Usavi S., Chien S. In vivo measurement of “apparent viscosity” and microvessel hematocrit in mesentery of the cat // *Microvasc. Res.* – 1980. – Vol. 19. – 297–319.
31. Lipowsky H. H., Cram L. E., Justice W., Eppihimer M. J. Effect of erythrocyte deformability on in vivo red cell transit time and hematocrit and their correlation with in vitro filterability // *Microvasc Res.* – 1993. – Vol. 46. – 43–64.
32. Marchesi V. T. The red cell membrane skeleton: recent progress // *Blood.* – 1983. – Vol. 61. – P. 1–11.
33. Mohandas N. Molecular bases for red cell membrane viscoelastic properties // *Biochim. Soc. Trans.* – 1992. – Vol. 20. – 776–782.
34. Mohandas N., Chasis J. A. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic pro-

teins and lipids // *Semin Hematol.* – 1993. – Vol. 30(3). – 171–192.

35. Manno S., Takakuwa Y., Nagao K. and Mohan-das N. Modulation of erythrocyte membrane mechanical function by beta-spectrin phosphorylation and dephosphorylation // *J Biol Chem.* 1995. – Vol. 270. – 5659–5665.

36. Miles D. Houslay and W. Kolch. Cell-Type Specific Integration of Cross-Talk between Extracellular Signal-Regulated Kinase and cAMP Signaling // *Mol. Pharm.* – 2000. – Vol. 58. – Issue 4. – 659–668.

37. Nash G.B. Red cell mechanics: what changes are needed to adversely affect in vivo circulation // *Biorheology.* – 1991. – Vol. 28. – 231–239.

38. Nash G. B., Meiselman H. J. Red cell and ghost viscoelasticity. Effects of hemoglobin concentration and in vivo aging // *Biophys J.* – 1983. – Vol. 43. – 63–73.

39. Neu B., Sowemimo-Coker S. O., Meiselman H. J. Cell-cell affinity of senescent human erythrocytes // *Biophys J.* – 2003. – 85. – 75–84.

40. Nunomura W., Takakuwa Y. Regulation of protein 4.1R interactions with membrane proteins by Ca²⁺ and calmodulin // *Front Biosci.* – 2006. – Vol. 1. – 1522–539.

41. Olearczyk J. J., Stephenson A. H., Lonigro A. J., Sprague R. S. NO inhibits signal transduction pathway for ATP release from erythrocytes via its action on heterotrimeric G protein Gi // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – H748–754.

42. Pasini E. M., Kirkegaard M., D. Salerno, Mortensen P., Lutz HU, Thomas AW, and Mann M. Deep coverage mouse red blood cell proteome. A first comparison with the human red blood cell // *Molecular & Cellular Proteomics.* – 2008. – Vol. 7. – 1317–1330.

43. Pfafferoth C, Nash G B, Meiselman H J. Red blood cell deformation in shear flow. Effects of internal and external phase viscosity and of in vivo aging // *Bio-phys J.* 1985. – Vol. 47(5). – 695–704.

44. Schmid-Schönbein H, Gaehtgens P. What is red cell deformability? *Scand J Clin Lab Invest Suppl* // 1981. – Vol. 156. – 13–26.

45. Secomb T. W. Flow – Dependent Rheological properties of blood in capillaries // *Microvasc. Res.* – 1987. – Vol. 34. – 46–58.

46. Sprague R., Stephenson A., Bowles E., Stumpf M., Ricketts G., Lonigro A. Expression of the heterotrimeric G protein Gi and ATP release are impaired in erythrocytes of humans with diabetes mellitus // *Adv Exp Med Biol.* – 2006. – Vol. 588. – 207–216.

47. Stoltz J. F. Red blood cell microrheology (clinical and pharmacological applications) // *Ric Clin Lab.* – 1983. – Vol. 13, Suppl 3. – 53–70.

48. Stoltz J. F., Donner M. Red blood cell aggregation: measurements and clinical applications // *Turkish. J. Med, Sci.* – 1991. – Vol. 15. – 26–39.

49. Stuart J., Nash G. B. Red cell deformability and haematological disorders // *Blood Rev.* – 1990. – Vol. 4. – 141–147.

50. Takakuwa Y. Mohandas N. Ishibashi T. Regulation of red cell membrane deformability and stability by skeletal protein network // *Biorheology.* – 1990. – Vol. 27. – 357–65.

51. Takakuwa Y. Regulation of red cell membrane protein interactions: implications for red cell function // *Curr Opin Hematol.* – 2001. – Vol. 8. – 80–84.