

6.– Ферментативная функция связана с наличием в эритроцитах большого количества ферментов, в частности карбоангидразы, метгемоглобинредуктазы, ферментов гликолиза.

Рекомендуемая литература

1. Нормальная физиология: учебник / Под ред. А.В. Завьялова, В.М. Смирнова. – 2011. – 368 с.
2. Нормальная физиология: учебник [Н.А. Агаджанян, Н.А. Барабаш, А.Ф. Белов и др.] / Под ред. проф. В.М. Смирнова. – 3-е изд. – М.: Издательский центр «Академия», 2010. – 480 с.
3. Физиология человека / В.Ф. Киричук, О.Н. Антипова, Н.Е. Бабиченко, В.М. Головченко, Е.В. Понукалина, И.В. Смышлеева, Л.К. Токаева / Под ред. В.Ф. Киричука. 2-е изд. – Саратов: Изд-во Саратовского медицинского университета, 2009. – 343 с.
4. Физиология и патофизиология красной крови: учеб. пособие / Н.П. Чеснокова, В.В. Моррисон, Е.В. Понукалина, Т.А. Невважай; под общ. ред. проф. Н.П. Чесноковой. – Саратов: Изд-во Саратов. мед. ун-та, 2013. – 80 с.
5. Патофизиология крови. Пер. с англ. – М. – СПб.: «Издательство БИНОМ» – «Невский Диалект», 2000. – 448 с., ил.
6. Механизмы развития болезней и синдромов / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов. Книга 1-я: учебник для студентов медицинских вузов. – СПб., 2007, ЭЛБИ. – 507 с.
7. Гематологический атлас. С. Луговская, М.Е. Почтар. 3-е изд. – Москва – Тверь: ООО «Изд-во Триада», 2011. – С. 3–23.
8. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография / Б.И. Кузник. – Чита: Экспресс-издательство, 2010. – С. 261–368.
9. Гематология / Под ред. проф. О.А. Рукавицына, А.Д. Павлова, Е.Ф. Моршакковой и др. – Изд-во СПб.: ООО «Д.П.», 2007. – С. 29–34.

ЛЕКЦИЯ 2.

ОСОБЕННОСТИ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИЙ ЭРИТРОЦИТАРНОЙ МЕМБРАНЫ

Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В.,
Бизенкова М.Н.

ГБОУ ВПО «Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского
Минздрава России», Саратов,
e-mail: e.ponukalina@yandex.ru

Особенности структурной организации мембраны эритроцитов

Эритроцит окружен плазматической мембраной, структура которой хорошо изучена, идентична таковой в других клетках. Цитоплазматическая мембрана эритроцитов включает бислой фосфолипидов, в то время как белки или «плавают» на поверхности мембран, или пронизывают липиды, обеспечивая прочность и вязкость мембран. Площадь мембраны одного эритроцита составляет около 140 мкм².

На долю белков приходится примерно 49%, липидов – 44%, углеводов – 7%. Углеводы химически связаны либо с белками, либо с липидами и образуют соответственно гликопротеиды и гликолипиды.

Важнейшими компонентами мембраны эритроцитов являются липиды, включающие до 48% холестерина, 17-28% – фосфотидилхолина, 13-25% – сфингомиелина и ряд других фосфолипидов.

Фосфотидилхолин мембраны эритроцитов несет нейтральный заряд, практически не вступает в реакции взаимодействия с положительно заряженными каналами Ca²⁺, обеспечивая тем самым атромбогенность эритроцитов. Благодаря таким свойствам, как текучесть, пластичность, эритроциты способны проходить через капилляры диаметром ~ 3 мкм.

Белки мембраны эритроцита делят на периферические и интегральные. К периферическим белкам относят спектрин, анкирин, белок 4.1., белок р55, адуцин и др. В группу интегральных белков входит фракция 3, а также гликофорины А, В, С, О, Е. Анкирин образует соединение с р-спектрином. В составе эритроцитов обнаружено около 340 мембранных и 250 растворимых белков.

Пластичность эритроцитов связана с фосфорилированием мембранных белков, особенно белков полосы 4.1.

Белок фракции 4.2. – паллидин обеспечивает связывание спектрин-актин-анкиринового комплекса с фракцией 3, относится к группе трансглутаминазных протеинов.

К числу сократительных белков мембраны эритроцитов относятся р-актин, тропомодулин, строматин и тропомиозин.

Гликофорины – интегральные белки мембраны эритроцитов, определяющие отрицательный заряд, способствующий отталкиванию эритроцитов друг от друга и от эндотелия сосуда.

Протеин 3 – основной белок актинов, регулирующий дефосфорилируемость эритроцита.

Как указывалось выше, мембрана эритроцита представляет собой сложный комплекс, включающий определенным образом организованные липиды, белки и углеводы, которые формируют наружный, средний и внутренний слои эритроцитарной мембраны.

Касаясь пространственного расположения различных химических компонентов эритроцитарной мембраны, следует отметить, что наружный слой образован гликопротеидами с разветвленными комплексами олигосахаридов, которые являются концевыми отделами групповых антигенов крови. Липидным компонентом наружного слоя являются фосфатидилхолин, сфингомиелин и неэстерифицированный холестерин. Липиды наружного слоя мембраны эритроцита играют важную роль в обеспечении постоянства структуры мембраны, избирательности ее проницаемости для различных субстратов и ионов. Вместе с фосфолипидами холестерин регулирует активность мембранно-связанных ферментов путем изменения вязкости мембраны, а также участвует в модификации вторичной структуры ферментов. Молярное отношение холестерин / фосфолипиды в мембранах клеток у человека и многих млекопитающих равно 0,9. Изменение этого соотношения в сторону увеличения наблюдается в пожилом возрасте, а также при не-

которых заболеваниях, связанных с нарушением холестерина обмена.

Снижение текучести мембраны эритроцита и изменение ее свойств отмечается также и при увеличении содержания сфингомиелина,

Средний бислой мембраны эритроцита представлен гидрофобными «хвостами» полярных липидов. Липидный бислой обладает выраженной текучестью, которая обеспечивается определенным соотношением между насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами гидрофобной части бислоя. Интегральные белки, к которым относятся ферменты, рецепторы, транспортные белки, обладают активностью только в том случае, если находятся в гидрофобной части бислоя, где они приобретают необходимую для активности пространственную конфигурацию. Поэтому любые изменения в составе липидов эритроцитарной мембраны сопровождаются изменением ее текучести и нарушением работы интегральных белков.

Внутренний слой мембраны эритроцита, обращенный к цитоплазме, состоит из белков спектрина и актина. Спектрин является специфическим белком эритроцитов, его гибкие вытянутые молекулы, связываясь с микрофиламентами актина и липидами внутренней поверхности мембраны, формируют своеобразный скелет эритроцита. Небольшой процент липидов во внутреннем слое мембраны эритроцита представлен фосфатидилэтаноламином и фосфатидилсерином. От наличия спектрина зависит подвижность белков, удерживающих двойной бислой липидов.

Одним из важных гликопротеинов является гликофорин, содержащийся как на внешней, так и на внутренней поверхностях мембран эритроцитов. Гликофорин в своем составе содержит большое количество сиаловой кислоты и обладает значительным отрицательным зарядом. В мембране он располагается неравномерно, образует выступающие из мембраны участки, которые являются носителями иммунологических детерминант.

Строение и состояние эритроцитарной мембраны, низкая вязкость нормального гемоглобина обеспечивают значительные пластические свойства эритроцитам, благодаря которым эритроцит легко проходит по капиллярам, имеющим вдвое меньший диаметр, чем сама клетка, и может принимать самые разнообразные формы. Другим периферическим мембранным белком эритроцитов является анкирин, образующий соединение с молекулой Р-спектрина.

Функции эритроцитарной мембраны

Мембрана эритроцитов обеспечивает регуляцию электролитного баланса клетки за счет активного энергозависимого транспорта электролитов или пассивной диффузии соединений по осмотическому градиенту.

В мембране эритроцитов имеются ионно-проницаемые каналы для катионов Na^+ , K^+ , для O_2 , CO_2 , Cl^- , HCO_3^- .

Транспорт электролитов через эритроцитарную мембрану и поддержание его мембранного потенциала обеспечивается энергозависимыми Na^+ , K^+ , Ca^{2+} – АТФ-азными системами.

Мембрана эритроцитов хорошо проницаема для воды при участии так называемых белковых и липидных путей, а также анионов, газообразных соединений и плохо проницаема для одновалентных катионов калия и натрия.

Белковый путь трансмембранного переноса воды обеспечивается при участии пронизывающего мембрану эритроцитов белка «полосы 3», а также гликофорина.

Молекулярная природа липидного пути переноса воды через эритроцитарную мембрану практически не изучена. Прохождение молекул небольших гидрофильных неэлектролитов через эритроцитарную мембрану осуществляется также, как и перенос воды, за счет белкового и липидного путей. Перенос мочевины и глицерина через мембрану эритроцита обеспечивается за счет ферментативных реакций.

Характерной особенностью мембраны эритроцитов является наличие мощной системы активного транспорта для одновалентных анионов (хлора и фтора), и двухвалентных анионов (SO_4^{2-} , PO_4^{2-}) за счет белков – переносчиков.

Перенос органических анионов через эритроцитарную мембрану обеспечивается, как и транспорт неорганических анионов, при участии белка «полосы 3».

Эритроцитарная мембрана обеспечивает активный транспорт глюкозы, кинетика которого обеспечивается зависимостью Михаэлиса-Ментен. Важная роль в транспорте глюкозы через эритроцитарную мембрану отводится полипептиду полосы 4,5 (белки с ММ 55 кД – возможные продукты распада полипептида полосы 3). Высказывается предположение о наличии специфического липидного окружения у белков – переносчиков сахаров в эритроцитарной мембране.

Неравномерное распределение моновалентных катионов в системе эритроцит – плазма крови поддерживается при участии энергозависимой Na^+ -помпы, осуществляющей трансмембранный обмен ионов Na^+ эритроцитов на ионы K^+ плазмы крови в соотношении 3:2. Кроме указанного трансмембранного обмена Na^+/K^+ , Na^+ помпа осуществляет еще, по крайней мере, четыре транспортных процесса: $\text{Na}^+ \rightarrow \text{Na}^+$ обмен; $\text{K}^+ \rightarrow \text{K}^+$ обмен; одновалентный вход ионов Na^+ , сопряженный с выходом K^+ .

Молекулярной основой Na^+ помпы является фермент Na^+ , K^+ – АТФ-аза – интегральный белок, прочно связанный с мембранными липидами, состоящий из 2х полипептидных субъединиц с ММ 80-100кД.

Транспортная система имеет 3 центра, связывающих ионов Na^+ , локализованных на цитоплазматической стороне мембраны. С наружной стороны мембраны на транспортной системе

имеется 2 центра связывания ионов K^+ . Важная роль в поддержании высокой активности фермента отводится мембранным фосфолипидам.

Функционирование Ca^{2+} -помпы обеспечивается нуклеотидами, а также макроэргическими соединениями, преимущественно АТФ, ЦТФ, ГТФ, в меньшей степени ГТФ и ЦТФ.

Как в случае Na^+ -помпы, функционирование Ca^{2+} -помпы в эритроцитах связано с проявлениями активности Ca^{2+} , Mg^{2+} –АТФ-азы. В мембране одного эритроцита обнаруживается около 700 молекул Ca^{2+} , Mg^{2+} –АТФ-азы.

Наряду с барьерной и транспортной функциями, мембрана эритроцитов выполняет рецепторную функцию.

Экспериментально доказано наличие на мембране эритроцитов рецепторов к инсулину, эндотелину, церулоплазмину, α_2 -макроглобулину, α - и β -адренорецепторов. На поверхности эритроцитов находятся рецепторы к фибриногену, обладающие достаточно высокой специфичностью. Эритроциты также несут на мембране рецепторы к гистамину, TxA_2 , простаглицлину.

В мембране эритроцитов обнаруживаются рецепторы для катехоламинов, снижающих подвижность жирных кислот липидов мембран эритроцитов, а также осмотическую устойчивость эритроцитов.

Установлена перестройка структуры мембраны эритроцитов под влиянием низких концентраций инсулина, гормона роста человека, простаглицлинов группы E и E2.

В мембранах эритроцитов высока и α – АМФ активность. При увеличении концентраций в эритроцитах α –АМФ (до 10–6 М) усиливаются процессы фосфорилирования белков, что приводит в свою очередь к изменению степени фосфорилированности и проницаемости мембран эритроцитов для ионов Ca^{2+} .

Эритроцитарная мембрана содержит изоантигены различных систем иммунологических реакций, определяющих групповую принадлежность крови человека по этим системам.

Антигенная структура эритроцитарной мембраны

Эритроцитарная мембрана содержит различные антигены видовой, групповой и индивидуальной специфичности. Различают два вида изоантигенов эритроцитов, определяющих групповую специфичность крови человек – А и В агглютиногены. Соответственно в плазме или сыворотке крови обнаруживаются две разновидности изоантител – агглютинины α и β . В крови человека не содержатся одноименных агглютиногенов и агглютининов. Их встреча и взаимодействие может возникнуть при переливании несовместимых групп крови, приводит к развитию агглютинации и гемолиза эритроцитов.

Как известно, I (0) группа крови характеризуется отсутствием в эритроцитах агглютиногенов А и В при наличии в плазме или сыворотке

крови агглютининов α и β , встречается у 40-50 % людей стран центральной Европы.

II (А) группа крови характеризуется наличием в мембране эритроцитов агглютиногена А, в то время как в плазме крови содержатся агглютинины β . Указанная группа крови распространена у 30–40 % людей.

III (В) группа крови характеризуется наличием агглютиногена В в мембране эритроцитов, а в плазме или сыворотке крови – наличием агглютининов типа α . Эта группа крови имеет место примерно у 10 % населения.

IV (AB) группа крови характеризуется наличием в мембране эритроцитов фиксированных А и В агглютиногенов, при этом в плазме или сыворотке крови отсутствуют естественные агглютинины α и β . Данная группа крови встречается у 6 % населения.

Генетический контроль антигенной системы А,В,О мембран эритроцитов представлен генами О, Н, А, В, локализованными в длинном плече 9-й пары хромосом.

Агглютинины α и β относятся к классу Ig M, являются естественными антителами, образуются у ребенка на первом году жизни, достигая максимума к 8 – 10 годам.

Второе место среди антигенных свойств мембран эритроцитов по клинической значимости занимает система Rh – Hr. Впервые Резус-фактор был открыт в 1940 году К. Ландштейнером и А. Винером, содержится в эритроцитах у 85 % людей белой расы. У 15 % людей эти эритроцитарные антигены отсутствуют. В настоящее время установлена липопротеидная природа антигенов данной системы, их насчитывается около 20, они образуют различные комбинации в мембране эритроцитов. Наиболее распространенными резусантигенами являются 6 разновидностей: Rh₀ (D), rh' (C), rh'' (E), Hr0 (d), hr' (c), hr'' (e). Наиболее сильным антигеном этой группы является Rh₀ (D).

Антитела системы Rh и Hr – антирезусагглютинины являются приобретенными, иммунными, отсутствуют в крови Rh (-) людей с момента рождения, синтезируются при первом переливании Rh (+) крови Rh (-) реципиенту, а также при первой беременности Rh (-) женщины Rh(+) плодом. При первой беременности эти антитела синтезируются медленно в течение нескольких месяцев в небольшом титре, не вызывая серьезных осложнений у матери и плода. При повторном контакте резус-отрицательного человека с резус-положительными эритроцитами возможен резус-конфликт. Антитела системы Rh – Hr относятся к классу Ig G, поэтому они легко проникают через плацентарный барьер, вызывают реакции агглютинации и гемолиза эритроцитов плода, что сопровождается развитием гемолитической желтухи новорожденных. В случае повторного переливания несовместимой по Rh-антигенам крови донора и реципиента может наблюдаться гемотрансфузионный шок.

Рекомендуемая литература

1. Нормальная физиология: учебник / Под ред. А.В. Завьялова, В.М. Смирнова, 2011. – 368 с.
2. Нормальная физиология: учебник [Н.А. Агаджанян, Н.А. Барабаш, А.Ф. Белов и др.] / Под ред. проф. В.М. Смирнова. – 3-е изд. – М.: Издательский центр «Академия», 2010. – 480 с.
3. Физиология человека / В.Ф. Киричук, О.Н. Антипова, Н.Е. Бабиченко, В.М. Головченко, Е.В. Понукалина, И.В. Смышлеева, Л.К. Токаева / Под ред В.Ф. Киричука. – 2-е изд. – Саратов: Изд-во Саратовского медицинского университета, 2009. – 343 с.
4. Физиология и патофизиология красной крови: учеб. пособие / Н.П. Чеснокова, В.В. Моррисон, Е.В. Понукалина, Т.А.Незважай; под общ. ред. проф. Н.П. Чесноковой. – Саратов: Изд-во Сарат. мед. ун-та, 2013. – 80 с.
5. Гематологический атлас / С. Луговская, М.Е. Почтар. 3-е издание. – Москва – Тверь: ООО «Изд-во Триада», 2011. – С. 3–23.
6. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии: монография / Б.И. Кузник. – Чита: Экспресс-издательство, 2010. – С. 261–368.
7. Гематология / Под ред проф. О.А. Рукавицына, А.Д. Павлова, Е.Ф. Морщаковой и др. – СПб.: ООО «Д.П.», 2007. – С. 29–34.

**ЛЕКЦИЯ 3.
МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ЭРИТРОЦИТОВ**

Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В.,
Бизенкова М.Н.

*ГБОУ ВПО «Саратовский государственный
медицинский университет им. В.И. Разумовского
Минздрава России», Саратов,
e-mail: e.ponukalina@yandex.ru*

**Источники энергетического обеспечения
эритроцитов**

Эритроцит является метаболически активной клеткой и содержит более 40 различных ферментов. Энергетическое обеспечение эритроцита осуществляется за счет утилизации глюкозы в реакциях анаэробного гликолиза. Эффективность гликолиза характеризуется образованием двух молекул АТФ на одну молекулу глюкозы, однако это небольшое количество энергии обеспечивает эритроциту выполнение всех его функций.

Основная доля энергии АТФ расходуется в эритроцитах на транспорт ионов, функционирование АТФ-азных систем и поддержание электролитного баланса клетки. Макроэргические фосфатные связи АТФ необходимы также и для инициации реакций гликолиза и пентозофосфатного цикла.

Наиболее важные реакции гликолиза протекают с участием следующих ферментов: гексокиназы, фосфофруктокиназы и пируваткиназы. Отличительной особенностью гликолиза в эритроците по сравнению с другими клетками является выработка значительного количества 2,3-дифосфоглицериновой кислоты, регулирующей кислородсвязывающую функцию гемоглобина.

Кроме гликолиза в эритроцитах происходит прямое окисление глюкозы в пентозофосфатном

цикле, на долю которого приходится 10 – 11% всего энергетического метаболизма клетки. Ключевыми ферментами пентозофосфатного цикла являются глюкозо-6-фосфат-дегидротеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа. В процессе пентозофосфатного окисления глюкозы образуется восстановленная форма кофермента НАДФ, используемая для восстановления глутатиона – основного компонента антиоксидантной системы эритроцита.

Главной функциональной группой глутатиона является сульфгидрильная группа, водород которой обеспечивает нейтрализацию органических и неорганических окислителей, действующих на мембрану эритроцита, и защищает липиды мембраны от свободнорадикального окисления.

Вышеизложенное делает очевидным большую значимость для поддержания стабильности эритроцитарной мембраны, интенсивности гликолитических реакций, обеспечивающих образование АТФ и соответственно полноценное функционирование АТФ-азных систем и трансмембранный перенос ионов, а также состояние пентозного цикла окисления глюкозы и образование достаточного количества НАДФН2.

В условиях врожденной или приобретенной недостаточности энергообеспечения эритроцитов при нарушении активности гликолитических ферментов, а также ферментов пентозофосфатного окисления глюкозы возникает дестабилизация эритроцитарной мембраны, изменение формы эритроцита и гемолиз.

Как известно, отличительными особенностями структуры и, соответственно, метаболизма эритроцитов являются отсутствие ядра, рибосомального аппарата, в связи с чем эритроциты не обладают белок-синтетической функцией. В эритроцитах отсутствуют митохондрии, система цитохром и соответственно отсутствует цикл трикарбоновых кислот. Эритроцит не производит *De novo* нуклеиновые кислоты и липиды. Основным источником энергии для эритроцита является глюкоза, метаболизирующаяся по двум основным путям: путь Эмбдена-Мейергофа и в гексозомонофосфатный путь.

Лишенный глюкозы эритроцит деградирует, переходит в эхиноцит, сфероцит и затем подвергается осмотическому лизису, поскольку теряет способность поддерживать градиент натрия и калия, в то же время накапливает окисленный глутатион и метгемоглобин в условиях окислительного стресса.

Метаболизм глюкозы в пути Эмбдена-Мейергофа заканчивается образованием пирувата или лактата. Проникновение глюкозы в эритроцит происходит довольно быстро с помощью неидентифицированного переносчика мембраны клеток. Концентрация глюкозы в эритроцитах такая же, как и в плазме крови. Основные стадии пути Эмбдена-Мейергофа включают: фосфорилирование глюкозы при участии АТФ и гексокиназы.