

БЕЛКОВЫЙ СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПЕЧЕНИ И ПОЧКИ

А.В. Дерюгина¹, О.П. Абаева², С.В. Романов³, М.В. Ведунова¹, Е.Н. Рябова^{1, 3},
С.А. Васенин³, Н.А. Титова¹

¹ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», Нижний Новгород, Российская Федерация

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

³ ФБУЗ «Приволжский окружной медицинский центр» ФМБА России, Нижний Новгород, Российская Федерация

Трансплантация органов является эффективным методом лечения пациентов с терминальными стадиями ряда тяжелых заболеваний. Однако серьезным осложнением при трансплантации являются реперфузионные повреждения, которые связаны с микроциркуляторными нарушениями и агрегацией форменных элементов крови. Эритроциты играют существенную роль в поддержании гемодинамических и реологических свойств крови, и изучение механизмов изменения их функциональных показателей является актуальной задачей. Основным показателем функционирования эритроцита служит стабильность структуры мембраны. Вопрос о модификации эритроцитарной мембраны при трансплантации органов на сегодняшний день не исследован. **Цель:** изучение белкового состава мембран эритроцитов, их агрегационных и электрокинетических показателей у реципиентов печени и почки, а также родственных доноров почки и фрагмента печени до и в динамике послеоперационного периода. **Материалы исследования.** Кровь 12 реципиентов почки, 5 родственных доноров почки, 8 реципиентов печени и 4 родственных доноров фрагмента печени во временной динамике – за 1–2 часа до операции, через 1 неделю, 1, 2, 7, 10, 12 месяцев после операции. Группу контроля составили 8 здоровых добровольцев. **Методы исследования.** Разделение белков проводили методом электрофореза по Лэммли. Электрофоретическую подвижность эритроцитов, характеризующую электрокинетические свойства клеток, измеряли методом микроэлектрофореза. Агрегацию рассчитывали микроскопически, путем подсчета неагрегированных эритроцитов. Сравнение полученных величин проводили по U-критерию Манна–Уитни. **Результаты.** Исследование мембраны эритроцитов крови реципиентов почки выявило значимое снижение количества белка полосы 3 и гликофорина до и после проведения трансплантации. Уровень белка полосы 3 был снижен в течение 1 месяца, гликофорина – в течение 7 месяцев после операции с максимальным уменьшением данных фракций белков более чем на 50% к 7-м суткам относительно значений контроля. Также регистрировалось снижение содержания спектрина в течение 2 месяцев после операции с максимальным снижением на 30% к 1 месяцу. У реципиентов печени анализ белков мембраны эритроцитов выявил снижение количества гликофорина до операции и дальнейшее его уменьшение в течение 2 месяцев посттрансплантационного периода. Максимальное снижение показателя – на 72% – было отмечено к 7-м суткам после операции. Кроме того, наблюдалось снижение количества спектрина и белка полосы 3 в течение 1 месяца более чем на 60% относительно значений контроля. У доноров изменения в белковой фракции эритроцитарных мембран регистрировались в отдаленный период после операции: у доноров почки снижение в 2 раза количества спектрина и белка полосы 3 отмечалось на 2-й месяц, у доноров печени снижение гликофорина в 2,3 раза – к 1-му месяцу после операции. Также в обеих группах доноров регистрировался рост концентрации актина к 1-му месяцу после операции. Выявленные изменения количества белков в белковой фазе эритроцитарных мембран сочетались с функциональными показателями эритроцитов. У реципиентов почки снижение ЭФПЭ и увеличение агрегации наблюдалось в течение 2 месяцев, у реципиентов печени изменения данных показателей зафиксированы в течение 1 месяца. У доноров обеих групп было выявлено уменьшение ЭФПЭ. **Заключение.** Совокупность полученных

Для корреспонденции: Абаева Ольга Петровна. Адрес: 603001, Нижний Новгород, Нижне-Волжская наб., 2. Тел. (910) 792-55-07. E-mail: abaevaop@inbox.ru

Corresponding author: Olga Abaeva. Address: 2, Nizhne-Volgsкая Naberezhnaya, Nizhny Novgorod, 603001, Russian Federation. Phone: (910) 792-55-07. E-mail: abaevaop@inbox.ru

результатов показала, что изменение электроотрицательности мембран эритроцитов сопряжено с изменением содержания гликофорина и белка полосы 3, тогда как в процессе агрегации эритроцитов у пациентов после трансплантации печени/почки значимыми факторами являются структурно-функциональные нарушения взаимосвязей таких мембранных белков, как спектрин, белок полосы 3, гликофорин. Изменение актина определяет сдерживание роста агрегации эритроцитов у доноров.

Ключевые слова: трансплантация почки, трансплантация печени, эритроциты.

PROTEIN COMPOSITION AND FUNCTIONAL PARAMETERS OF RBC MEMBRANES IN LIVER AND KIDNEY TRANSPLANTATION

A.V. Deryugina¹, O.P. Abaeva², S.V. Romanov³, M.V. Vedunova¹, E.N. Ryabova^{1, 3}, S.A. Vasenin³, N.A. Titova¹

¹ Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, Nizhni Novgorod, Russian Federation

² Sechenov University, Moscow, Russian Federation

³ Volga District Medical Center, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Organ transplantation is an effective treatment for many end-stage diseases. However, reperfusion injury constitutes a major complication of transplantation, which is associated with microcirculatory disorders and aggregation of blood corpuscles. Red blood cells (RBC) play an essential role in maintaining hemodynamic and rheological properties of the blood. Moreover, the study of mechanisms of changes in RBC functional indices is an urgent task. The main indicator of RBC functioning is the stability of RBC membrane structure. The issue of RBC membrane modification in organ transplantation has not been studied so far. **Objective:** to study the protein composition of RBC membranes, their aggregation and electrokinetic parameters in liver and kidney recipients, as well as in related kidney and liver fragment donors before and after operation. **Research materials.** Blood of 12 kidney recipients and 5 related kidney donors, 8 liver recipients and 4 related liver fragment donors – 1–2 hours before surgery, 1 week, 1, 2, 7, 10, 12 months after surgery. The control group consisted of 8 healthy volunteers. **Research methods.** Protein separation was done by Laemmli electrophoresis. RBC electrophoretic mobility, which characterizes the electrokinetic properties of cells, was measured by microelectrophoresis. Aggregation was calculated microscopically by counting unaggregated RBCs. Obtained values were compared by Mann-Whitney U test. **Results.** Examination of the RBC membrane of kidney recipients revealed a significant decrease in the amount of Band 3 protein and glycophorin before and after transplantation. Band 3 protein levels reduced at 1 month, glycophorin reduced at 7 months after surgery, with a maximum decrease in these protein fractions by more than 50% by 7 days compared with control values. There was also a decrease in spectrin content for 2 months after surgery with a maximum decrease of 30% by 1 month. In liver recipients, analysis of RBC membrane proteins revealed a decrease in the amount of glycophorin before surgery and further decrease at 2 months of post-transplant period. The maximum decrease in this index was 72% by 7 days after surgery. In addition, there was a fall in spectrin and Band 3 protein levels at 1 month by more than 60% relative to the control values. In donors, there were changes in the protein fraction of RBC membranes in the long-term post-operative period: spectrin and Band 3 protein levels reduced by 2 times at month 2 in kidney donors, while glycophorin levels reduced by 2.3 times at month 1 after operation in liver donors. Similarly, both groups of donors had increased actin levels at month 1 after surgery. The revealed changes in protein levels in the protein phase of RBC membranes were combined with functional indices of RBCs. In kidney recipients, decreased RBC electrophoretic mobility and increased aggregation were detected at 2 months. In liver recipients, the changes in these indicators were at 1 month. A decrease in RBC electrophoretic mobility was detected in donors of both groups. **Conclusion.** Changes in RBC membrane electronegativity are associated with changes in glycophorin and Band 3 protein levels, whereas in RBC aggregation process in liver/kidney recipients, the structural and functional disorders in the interrelationships of such membrane proteins as spectrin, Band 3 protein, and glycophorin, are significant factors. Alteration of actin determines inhibition of RBC aggregation growth in donors.

Keywords: kidney transplantation, liver transplantation, red blood cells.

ВВЕДЕНИЕ

Трансплантация органов завоевала уверенные позиции в мире как эффективный метод лечения пациентов с терминальными стадиями ряда тяжелых

заболеваний [1]. При этом трансплантация является технически сложным оперативным вмешательством, которое может сопровождаться массивной кровопотерей, являющейся причиной осложнений в раннем

послеоперационном периоде [2]. Кроме того, при данном виде хирургического вмешательства изменение гомеостаза сопряжено с дисбалансом в свертывающей системе [3, 4]. Патогенез коагулопатии опосредуется через энтоделиальные повреждения и активацию каскада гиперкоагуляции, что приводит к нарушениям микроциркуляции в раннем посттрансплантационном периоде [3].

Эритроциты, в свою очередь, оказывают существенное влияние на реологические свойства крови и микроциркуляцию [16]. Нарушение структуры мембраны приводит к изменению их жесткости, способствует уменьшению деформации, повышению агрегации эритроцитов и инициированию процесса тромбообразования [5, 6]. Усиление агрегации клеток и увеличение высвобождения таких прокоагулянтов, как эритроцитин и АДФ, стимулирует процесс свертывания крови [7, 8]. Агрегация эритроцитов может быть причиной тканевой гипоксии, так как агрегаты, заполняя просвет капилляров, не оставляют места для пристеночного слоя плазмы, являясь причиной стаза крови [9]. Таким образом, эритроциты играют существенную роль в поддержании гемодинамических и реологических свойств крови, и изучение механизмов изменения их функциональных показателей является актуальной задачей. Основным показателем функционирования эритроцита служит стабильность структуры мембраны [10]. Однако вопрос о модификации эритроцитарной мембраны при трансплантации органов на сегодняшний день не исследован. С этих позиций не изучен послеоперационный период не только реципиентов, но и родственных доноров, у которых при изъятии почки или фрагмента печени риск развития нарушения гемодинамики многократно возрастает.

Целью работы ставилось изучение белкового состава мембран эритроцитов, их агрегационных и электрокинетических показателей у реципиентов печени и почки, а также родственных доноров почки и фрагмента печени до и в динамике послеоперационного периода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе проводилось исследование крови пациентов, которым была произведена трансплантация почки или печени, и родственных доноров в послеоперационный период. Операции по эксплантации и трансплантации почки и печени осуществлялись на базе Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Приволжский окружной медицинский центр» Федерального медико-биологического агентства (далее – ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России), где подобные медицинские вмешательства выполняются начиная с 2006 года [11]. Все пациенты дали добровольное информированное согласие, по форме, утвержденной приказом Министерства здравоохра-

нения Российской Федерации от 11 августа 2017 г. № 517н. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России. Под наблюдением находилось 12 реципиентов почки от посмертного донора, 5 родственных доноров почки, 8 реципиентов печени от посмертного донора и 4 родственных донора фрагмента печени в возрасте от 40 до 58 лет. Среднее время консервации: от посмертных доноров почки – $510 \pm 219,33$ мин, от родственных доноров почки – $22 \pm 2,73$ мин, от посмертных доноров печени – $330 \pm 32,07$ мин, от родственных доноров печени – $26,5 \pm 1,73$ мин. Группу контроля составили 8 здоровых добровольцев. Все участники исследования наблюдались в амбулаторном центре трансплантации ФБУЗ ПОМЦ ФМБА России в соответствии с утвержденными стандартами [12]. Кровь для анализа брали из локтевой вены пациентов во временной динамике – за 1–2 часа до операции, через 1 неделю, 1, 2, 7 месяцев после операции для исследования белковых фракций мембран эритроцитов и дополнительно через 10 и 12 месяцев после операции для исследования степени агрегации и электрофоретической подвижности эритроцитов, характеризующей их электрокинетические свойства.

Разделение белков проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) [ДСН-ПААГ-электрофорез (SDS-PAGE)] по Лэммли [13] с использованием камеры Mini – PROTEAN Tetra Cell (Bio-Rad, USA). Для приготовления гелей использовали 30% раствор акриламида/метилена-бис-акриламида. Буфер для приготовления концентрирующего геля содержал 0,5 М Трис-ОН, 0,4% ДСН, pH 6,8. Для приготовления разделяющего геля использовали буфер, содержащий 1,5 М Трис-ОН, 0,4% ДСН, pH 8,8. Камеры для проведения электрофореза заполняли буфером, содержащим 0,025 М Трис-ОН, 0,192 М глицин, 0,1% ДСН, pH 8,3. Полимеризацию проводили в присутствии тетраметилэтилендиамина (TEMED) и 10% персульфата аммония (APS) при комнатной температуре. Объем наносимых проб составлял 20 мкл. Перед нанесением образцы разводили буфером для проб (0,0625 М Трис-НСl, 10% глицерин, 0,001% бромфеноловый синий, 5% меркаптоэтанол, 2,3% ДСН, pH 6,8) и прогревали на водяной бане (100 °С) в течение 10 мин. Во время прохождения пробами концентрирующего геля электрофорез проводили при постоянной силе тока 20 мА. В разделяющем геле сила тока составляла 40 мА. По окончании электрофореза гель окрашивали 30–60 мин в растворе, содержащем Coomassie Blue R250, 40% метанола, 10% уксусной кислоты. Несвязанный краситель удаляли отмывкой геля в растворителе (40% метанол, 10% уксусная кислота). Полученные гель-дорожки были обработаны в программе ImageJ. В качестве

метчиков использовали стандартные образцы белков (Bio-Rad, USA).

Методом электрофореза в мембране эритроцитов обнаруживают около 15 основных мембранных белков с молекулярной массой от 15 до 250 кД. Около 60% массы мембранных белков приходится на спектрин, гликофорин и белок полосы 3. Учитывая, что главными белками цитоскелета являются спектрин (полоса 1 и 2), анкирин (полоса 2.1), белки полосы 4.1, 4.9 и актин (полоса 5), а по функциональному и количественному отношению среди интегральных белков преобладают белок полосы 3 или анионный канал и гликофорины [14, 15], в нашей работе был проведен анализ именно данных фракций белков мембраны эритроцитов.

Определение электрокинетических и агрегационных свойств проводили по измерению электрофоретической подвижности эритроцитов (далее – ЭФПЭ) и оптическому измерению агрегации эритроцитов. ЭФПЭ определяли методом микроэлектрофореза с использованием цитоферометра в нашей модификации [16]. Регистрировали время прохождения эритроцитами расстояния 100 мкм в трис-НСl буфере с рН 7,4 при силе тока 8 мА. Агрегацию эритроцитов изучали методом оптической микроскопии путем подсчета одиночных эритроцитов и их агрегатов в раствор голубого декстрана Т-2000 (GE Healthcare фирма, 20 мг/мл) в Трис НСl-буфере [17].

Статистическая обработка полученных данных выполнена в Statistica 12, R. Проверку распределения на соответствие нормальному закону выполня-

ли с применением критерия согласия Колмогорова–Смирнова. При анализе различий в отдельных группах статистическую значимость рассчитывали с помощью множественного t-критерия с использованием метода Сидака–Бонферрони. Различия между группами реципиентов и доноров анализировали с помощью непараметрического теста Манна–Уитни. Используемые в работе доверительные интервалы для обозначения статистической значимости следующие: $p < 0,05$ – данные различаются (*); $p < 0,01$ – данные различаются (#).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования белков эритроцитарной мембраны показали значимое количественное изменение белковых фракций в мембране эритроцитов как реципиентов почки/печени, так и родственных доноров.

При анализе белков мембраны эритроцитов реципиентов почки выявлено снижение основных интегральных белков эритроцитарной мембраны: белка полосы 3 и гликофорина до операции на 24 и 25% относительно значений контроля (рис. 1). В постоперационный период регистрировалось дальнейшее снижение концентрации белка полосы 3 на 60% к 7-м суткам после операции относительно значений контроля с последующим постепенным восстановлением показателя к контрольным значениям. Также к 7-м суткам регистрировалось снижение концентрации спектрина и гликофорина на 34 и 58% соответ-

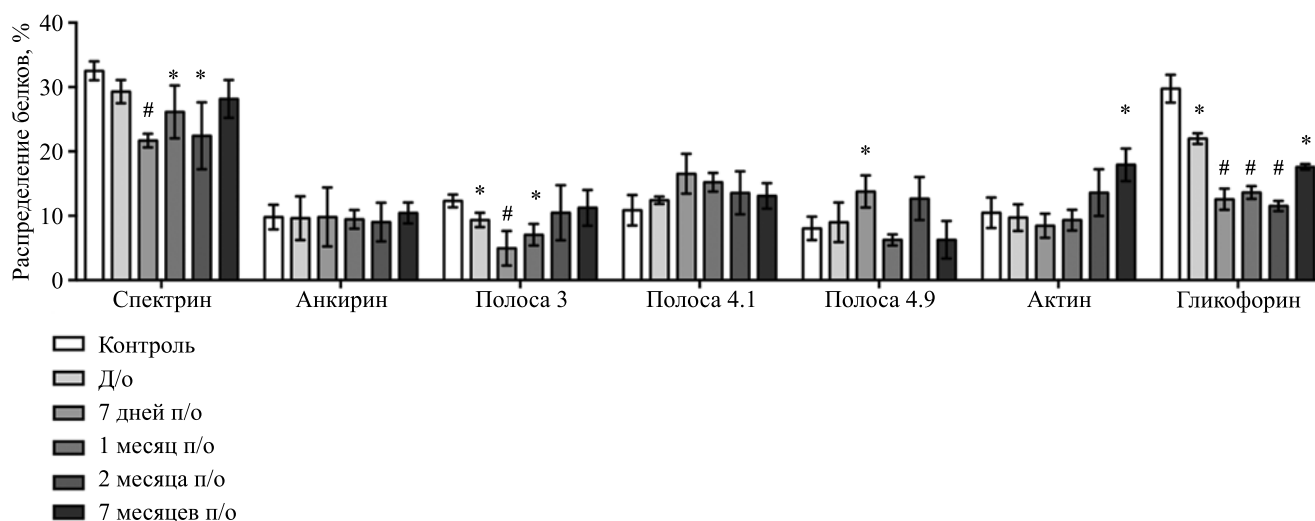


Рис. 1. Динамика белкового состава мембран эритроцитов крови пациентов, перенесших трансплантацию почки. Здесь и далее на рис.: д/о – до операции; п/о – после операции; * – статистически значимые различия относительно контроля ($p < 0,05$); # – статистически значимые различия относительно контроля ($p < 0,01$). Планки погрешностей представлены стандартным отклонением

Fig. 1. Dynamics of protein composition of RBC membranes in kidney transplant recipients. Here and below in Fig.: д/о – before surgery; п/о – after surgery; * – statistically significant differences versus control ($p < 0.05$); # – statistically significant differences versus control ($p < 0.01$). The error bars represent standard deviations

ственно относительно значений контроля с последующим сохранением сниженного уровня спектрина в течение двух месяцев постоперационного периода и гликофорина – в течение всего срока наблюдения.

У родственных доноров почки регистрировалось снижение спектрина на 50%, белка полосы 3 на 65% на 2-й месяц постоперационного периода и рост количества актина к 1 месяцу на 78% относительно контроля (рис. 2). Через 7 месяцев после операции белковый состав мембран восстанавливался до контрольных значений.

Сравнение белкового состава эритроцитов между группами реципиентов и доноров почки выявило различия в динамике спектрина, белка полосы 3 и гликофорина на всех точках регистрации до 2-го месяца после операции ($p < 0,05$), что свидетельствует

о более выраженном изменении белкового состава эритроцитов реципиентов.

Исследование мембраны эритроцитов у пациентов после трансплантации печени выявило значимое снижение количества гликофорина до и после операции в течение 2 месяцев с максимальным снижением показателя к 7-м суткам после операции на 72% относительно значений контроля (рис. 3). После операции на 7-е сутки регистрировалось снижение белка полосы 3 на 80%, к 1 месяцу сохранялось пониженное значение белка полосы 3 на 66% и наблюдалось снижение концентрации спектрина на 25% относительно контроля. К концу исследования белковый спектр восстанавливался до контроля.

У родственных доноров фрагмента печени изменения белкового состава были выявлены только

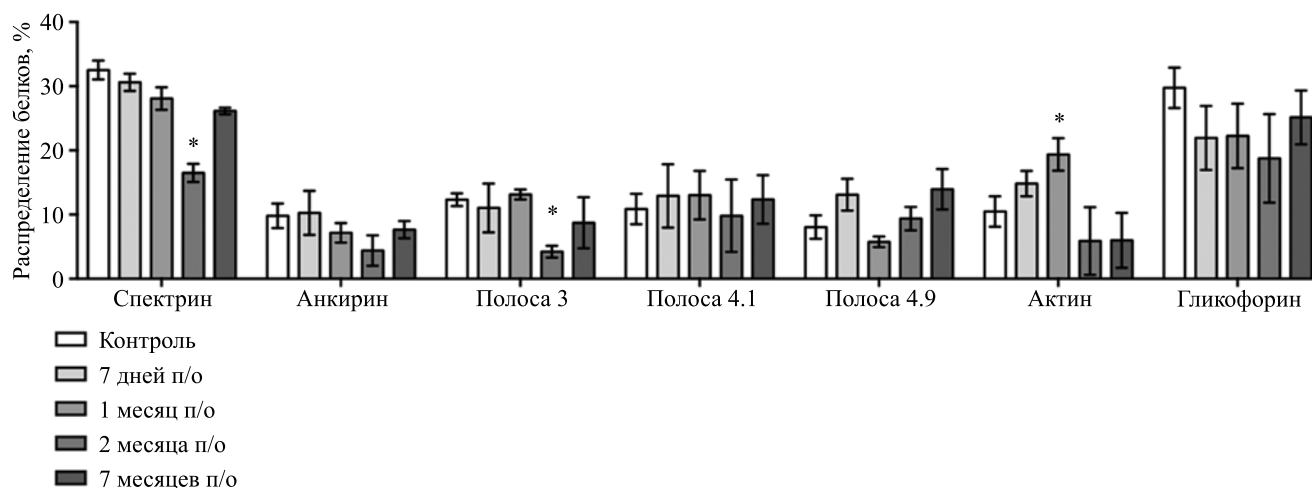


Рис. 2. Динамика белкового состава мембран эритроцитов крови родственных доноров почки

Fig. 2. Dynamics of protein composition of RBC membranes in related kidney donors

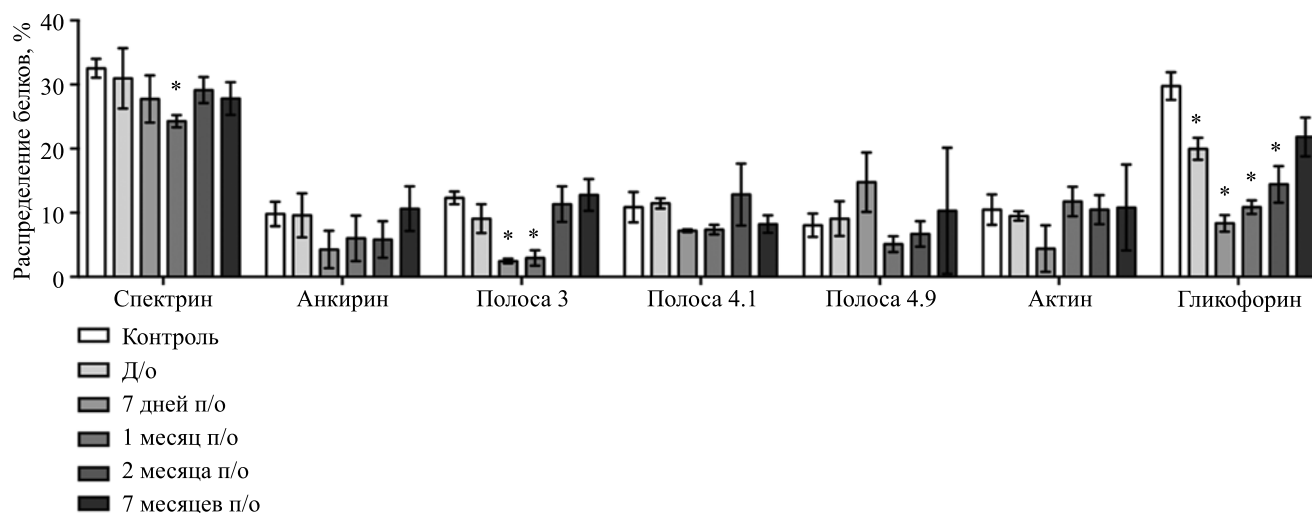


Рис. 3. Динамика белкового состава мембран эритроцитов крови пациентов, перенесших трансплантацию печени

Fig. 3. Dynamics of protein composition of RBC membranes in liver transplant recipients

в отношении содержания гликофорина к 1 месяцу наблюдения (снижение составило 65%) и актина, концентрация которого увеличивалась на 49%, при сохранении остальных фракций на уровне значений контроля (рис. 4).

При сравнении концентраций белковых фракций мембран эритроцитов у реципиентов и доноров печени были выявлены значимые отличия по содержанию спектрина через 1 месяц после операции, белка полосы 3 – на 7-е сутки и 1 месяц после операции и гликофорина – 7-е сутки – 2 месяца после операции ($p < 0,05$).

Таким образом, в послеоперационный период наблюдались изменения как периферических, так и интегральных белков эритроцитарной мембраны, что сочеталось с изменением функциональных показателей эритроцитов (ЭФПЭ – показателя, отражающе-

го поверхностный заряд клеток) и агрегационными свойствами эритроцитов. Показано, что у пациентов, перенесших трансплантацию почки, значение ЭФПЭ было значимо снижено в период до второго месяца после операции (рис. 5). У доноров почки происходило снижение ЭФПЭ в период от 1 до 2 месяцев после операции (рис. 6). После двух месяцев показатель ЭФПЭ восстанавливался. Исследование агрегационных свойств эритроцитов выявило, что у пациентов, перенесших трансплантацию почки, наблюдалось повышение агрегации эритроцитов, что согласуется с понижением ЭФПЭ у данной группы пациентов (рис. 7). У родственных доноров почки не наблюдалось значимого изменения агрегации (рис. 8).

У пациентов, перенесших трансплантацию печени, регистрировалось снижение ЭФПЭ в течение первого месяца после операции (рис. 9). У родственных

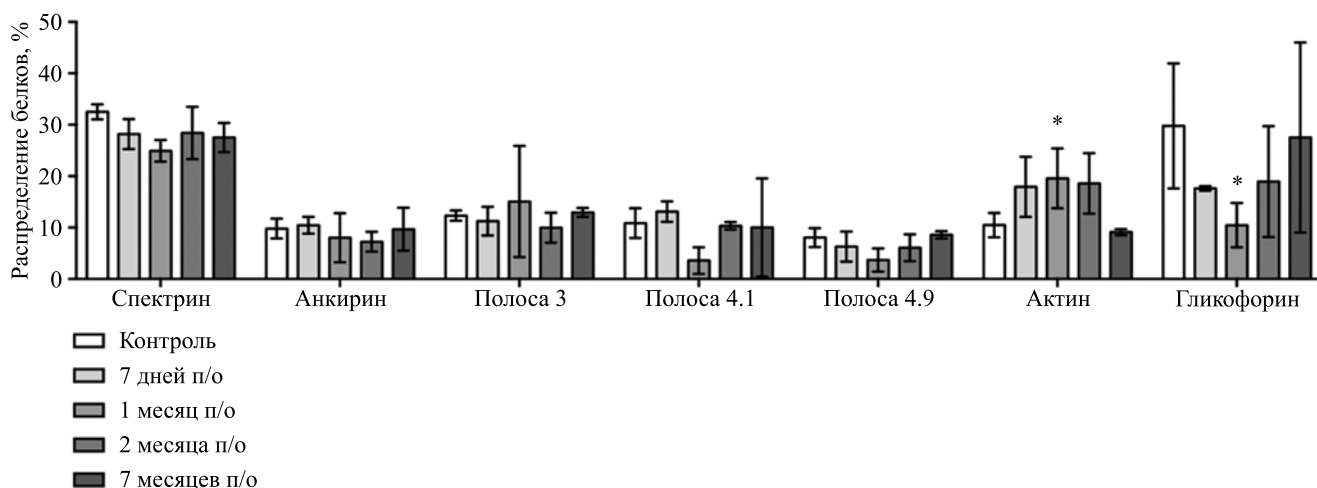


Рис. 4. Динамика белкового состава мембран эритроцитов крови родственных доноров печени

Fig. 4. Dynamics of protein composition of RBC membranes in related liver donors

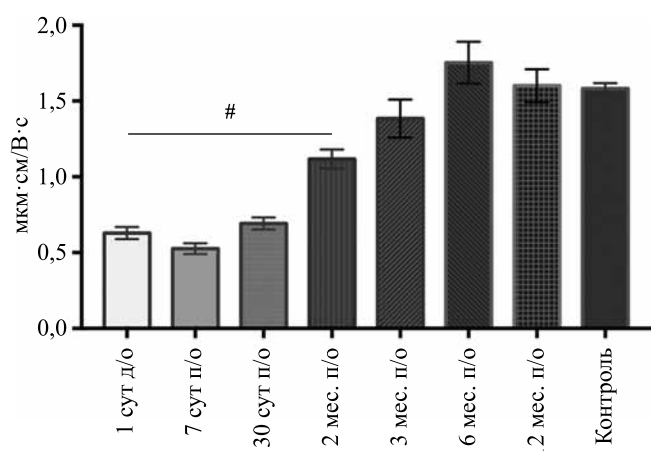


Рис. 5. Динамика изменения ЭФПЭ пациентов, перенесших трансплантацию почки

Fig. 5. Dynamics of changes in RBC electrophoretic mobility in kidney transplant recipients

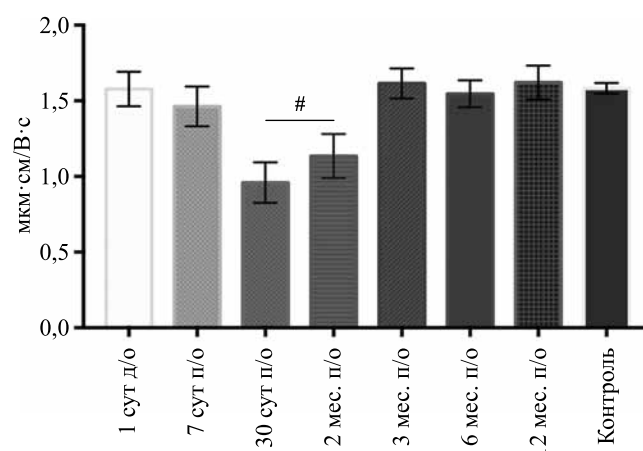


Рис. 6. Динамика изменения ЭФПЭ родственных доноров почки

Fig. 6. Dynamics of change in RBC electrophoretic mobility in related kidney donors

доноров фрагмента печени снижение ЭФПЭ было отмечено на 30-е сутки после операции (рис. 10). Показано, что у пациентов, перенесших трансплантацию печени, наблюдалось достоверное повышение агрегации эритроцитов в период до 1 месяца (рис. 11). У родственных доноров фрагмента печени значимых изменений исследуемого показателя не отмечено (рис. 12).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что структурные изменения мембран эритроцитов при развитии патологических процессов играют решающую роль в реализации функциональной активности клеток. В данном пилотном исследовании нами показано, что изменение белкового состава мембраны влияло на элетроотрицательность эритроцитов и их агрегацию у реципиен-

тов и на элетроотрицательность у доноров печени и почки. При этом необходимо учитывать, что серьезным осложнением при трансплантации являются реперфузионные повреждения, которые связаны с микроциркуляторными нарушениями и агрегацией форменных элементов крови [18].

Анализ результатов показал, что у реципиентов печени и почки, а также родственных доноров наблюдалась однонаправленная динамика, выраженная в снижении количества интегральных белков. Причем у реципиентов изменение интегрального белка – гликофорина регистрировалось до операции и сохранялось в постоперационный период. Учитывая высокую сопряженность ЭФПЭ с отклонением гликофорина и белка полосы 3, можно предположить, что отмеченная выше динамика изменения уровня данных мембранных белков является одним из ве-

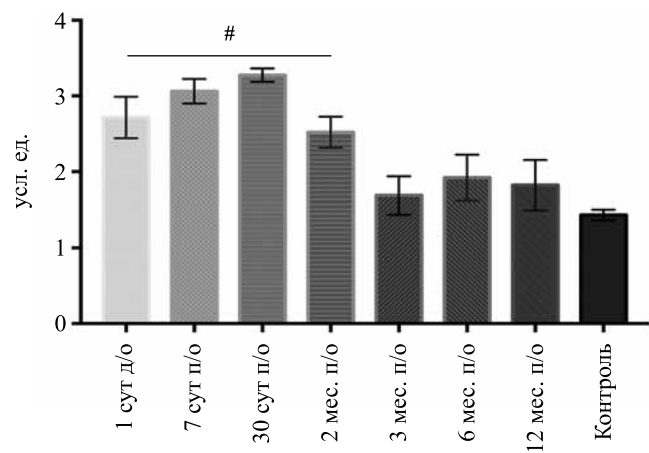


Рис. 7. Динамика агрегации эритроцитов у пациентов, перенесших трансплантацию почки

Fig. 7. Dynamics of RBC aggregation in kidney transplant recipients

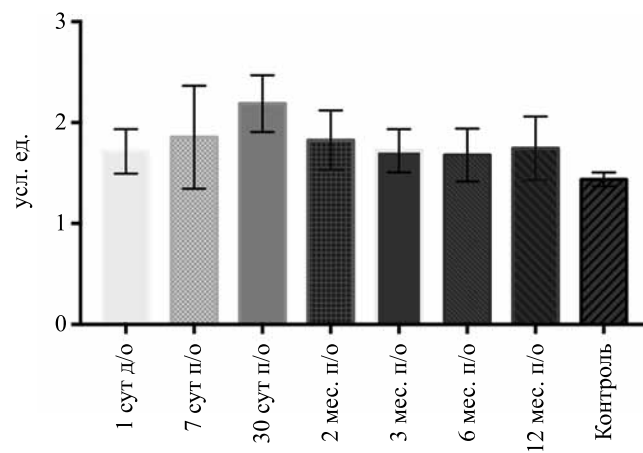


Рис. 8. Показатель агрегации эритроцитов у родственных доноров почки

Fig. 8. Dynamics of RBC aggregation in related kidney donors

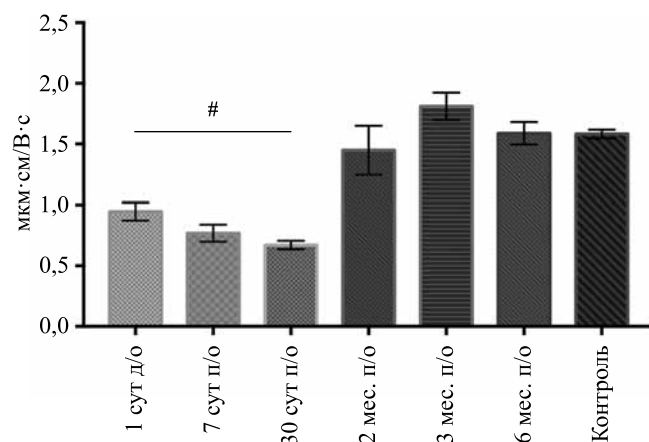


Рис. 9. Динамика изменения ЭФПЭ пациентов, перенесших трансплантацию печени

Fig. 9. Dynamics of changes in RBC electrophoretic mobility in liver transplant recipients

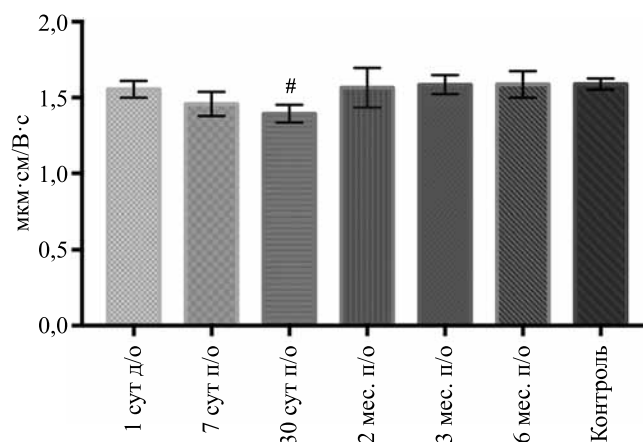


Рис. 10. Динамика изменения ЭФПЭ родственных доноров фрагмента печени

Fig. 10. Dynamics of changes in RBC electrophoretic mobility in related liver donors

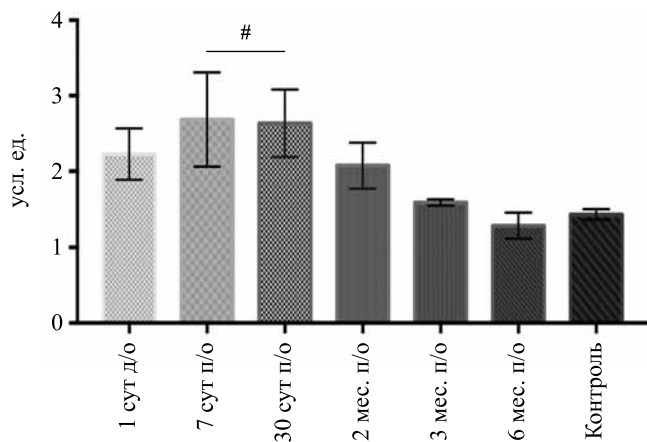


Рис. 11. Показатель агрегации эритроцитов у пациентов, перенесших трансплантацию печени, во временной динамике

Fig. 11. Dynamics of RBC aggregation in liver transplant recipients

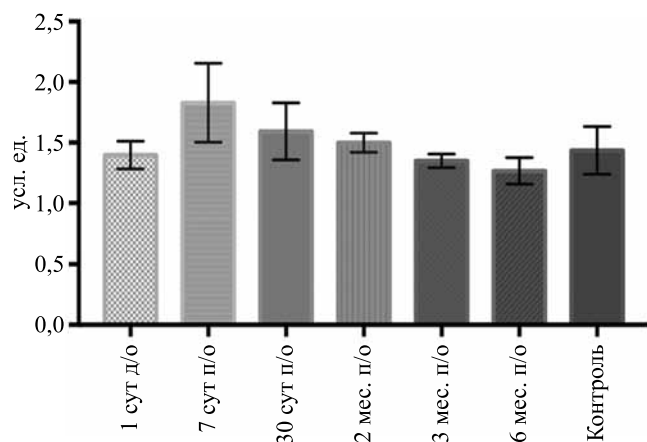


Рис. 12. Показатель агрегации эритроцитов у родственных доноров почки

Fig. 12. Dynamics of RBC aggregation in related kidney donors

дущих факторов, определяющих изменение электроотрицательности эритроцитарных мембран. В частности, известно, что белок полосы 3 и гликофорин относятся к сиалогликопротеинам и вносят основной вклад в создание отрицательного поверхностного заряда [19, 20]. Модификация поверхностного заряда может вносить вклад в агрегацию эритроцитов, но не является основополагающим фактором, что доказывает выявленное снижение ЭФПЭ и отсутствие агрегации у доноров исследуемых групп.

Изменение агрегации, по всей видимости, носит более сложный характер и определяется множественными взаимодействиями как интегральных, так и периферических белков. В качестве значимых факторов в процессе агрегации могут выступать белки цитоскелета, которые определяют пластичность мембраны:

при уменьшении содержания спектрина наблюдается сокращение мест связывания с анкирином и снижение поверхностной вязкости мембраны [21]. Вероятно, определенный вклад в такие характеристики, как пластичность и агрегация эритроцитов, вносит белок полосы 3. Так, цитоплазматическая область белка полосы 3 имеет сайты связывания с рядом ферментов гликолиза [22], снижение активности гликолиза уменьшает концентрацию АТФ, активность Na-K-АТФазы и пластичность эритроцитов [23]. Угнетение активности Na-K-АТФазы приводит к увеличению концентрации внутриклеточного Ca²⁺ [24]. Накопление ионов Ca²⁺ активирует кальмодулин, который определяет рост агрегации эритроцитов [22, 25].

Таким образом, совокупность полученных результатов свидетельствует, что в процессе агрегации эритроцитов у пациентов после трансплантации печени/почки значимыми факторами являются структурно-функциональные нарушения, определяемые спектрином, белком полосы 3, гликофорин. Причем, анализируя динамику белкового состава эритроцитов доноров, можно говорить, что рост концентрации актина сдерживает усиление агрегации эритроцитов.

ВЫВОД

При трансплантации органов, в частности печени и почки, происходит повреждение белковой структуры мембран эритроцитов, выраженное как у реципиента, так и у родственных доноров, что может инициировать снижение электроотрицательности и увеличение агрегации эритроцитов.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Готье СВ. Трансплантология XXI века: высокие технологии в медицине и инновации в биомедицинской науке. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2017; 19 (3): 10–32. Gautier SV. Transplantation of the 21st century: High technologies in medicine and innovations in biomedical science. *Russian Journal of Transplantation and Artificial Organs*. 2017; 19 (3): 10–32. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2017-3-10-32.
2. Журавель СВ, Кузнецова НК, Чжао АВ, Тимербайев ВХ. Трансфузия компонентов крови при ортотопической трансплантации печени. *Общая реаниматология*. 2007; 3 (4): 28–30. Zhuravel SV, Kuznetsova NK, Chzhao AV, Timerbayev VKh. Transfusion of blood components during orthotopic hepatic transplantation. *General reanimatology*. 2007; 3 (4): 28–30. [In Russ].
3. Тарабарко НВ, Епифанов СЮ, Пинчук АВ. Комплексная коррекция состояния свертывающей системы крови в ранние сроки после трансплантации почки.

- Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016; (5): 24–25. Tarabarko NV, Epifanov SU, Pinchook AV. The complex correction of blood coagulability in early terms after kidney transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2016; (5): 24–25. [In Russ].
4. Хубутия МШ, Журавель СВ, Гуляев ВА, Кабанова СА, Хватов ВБ, Никулина ВП. Использование эритроцитов донора печени при ортотопической трансплантации трупной печени. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2014; 4 (48): 152–157. Khubutiya MSh, Zhuravel SV, Gulyaev VA, Kabanova SA, Khvatov VB, Nikulina VP. Usage of red blood cells from cadaveric donor during orthotopic liver transplantation. *Vestnik Rossiiskoi Voenno-meditsinskoi akademii*. 2014; 4 (48): 152–157. [In Russ, English abstract].
 5. Манченко ЕА, Козлова ЕК, Сергунова ВА, Черныш АМ. Однородная деформация нативных эритроцитов при их длительном хранении. *Общая реаниматология*. 2019; 15 (5): 2–10. Manchenko EA, Kozlova EK, Sergunova VA, Chernysh AM. Homogeneous deformation of native erythrocytes during long-term storage. *General reanimatology*. 2019; 15 (5): 2–10. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15360/1813-9779-2019-5-4-10.
 6. Муравьев АВ, Михайлов ПВ, Тихомирова ИА. Микроциркуляция и гемореология: точки взаимодействия. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2017; 16 (2): 90–100. Muravyov AV, Mikhailov PV, Tikhomirova IA. Microcirculation and hemorheology: points of interaction. *Regional blood circulation and microcirculation*. 2017; 16 (2): 90–100. [In Russ, English abstract].
 7. Бояринов ГА, Бояринова ЛВ, Дерюгина АВ, Соловьева ОД, Зайцев РР, Военнов ОВ и др. Роль вторичных факторов повреждения мозга в активации сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при черепно-мозговой травме. *Общая реаниматология*. 2016; 12 (5): 42–51. Boyarinov GA, Boyarinova LV, Deryugina AV, Solov'eva OD, Zaytsev RR, Voyennov OV et al. Role of secondary brain damage factors in activation of vascular platelet hemostasis in traumatic brain injury. *General reanimatology*. 2016; 12 (5): 42–51. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15360/1813-9779-2016-5-42-51.
 8. Kuhn V, Diederich L, Keller TCS 4th, Kramer CM, Lückstädt W, Panknin C et al. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxidants & redox signaling*. 2017; 26 (13): 718–742. doi: 10.1089/ars.2016.6954.
 9. Дерюгина АВ, Грачева ЕА. Динамика морфофункциональных показателей эритроцитов при действии сульфгидрильного ингибитора ангиотензин-превращающего фермента фентиаприла в экспериментальном моделировании артериальной гипертензии. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2019; 105 (9): 1163–1170. Deryugina AV, Gracheva EA. Dynamics of the morpho-functional indicators of erythrocytes under the action of sulfhydryl inhibitor of angiotensin-converting enzyme fentiaprilin the experimental model of arterial hypertension. *Russian journal of physiology*. 2019; 105 (9): 1163–1170. [In Russ, English abstract]. doi: 10.1134/S0869813919090048.
 10. Skoumalová A, Herget J, Wilhelm J. Hypercapnia protects erythrocytes against free radical damage induced by hypoxia in exposed rats. *Cell Biochem Funct*. 2008; 26 (7): 801–807. doi: 10.1002/cbf.1509. PMID: 18683905.
 11. Романов СВ, Абаева ОП, Александрова ОЮ, Смирнова ГЮ. Проблемы и перспективы построения системы органного донорства в регионе (на примере Нижегородской области). *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2019; 21 (1): 57–63. Romanov SV, Abaeva OP, Alexandrova OY, Smirnova GY. Issues and perspectives of building a regional system of donor services (on the example of Nizhny Novgorod region). *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2019; 21 (1): 57–63. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2019-1-57-63.
 12. Романов СВ, Жуков СН, Дзюбак СА. Экономические и социальные проблемы оказания медицинской помощи реципиентам почки и печени в амбулаторных условиях (на примере регионального амбулаторного центра трансплантации). *Главврач*. 2020; (1): 23–33. Romanov SV, Zhukov SN, Dzyubak SA. Economic and social problems of providing medical care to kidney and liver recipients on an outpatient basis (on the example of a regional outpatient transplantation center) Chief Medical Officer. 2020; (1): 23–33. [In Russ, English abstract]. doi: 10.33920/med-03-2002-02.
 13. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227 (259): 680–685.
 14. Боровская МК, Кузнецова ЭЭ, Горохова ВГ, Корякина ЛБ, Курильская ТЕ, Пивоваров ЮИ. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2010; 3 (73): 334–354. Borovskaya MK, Kuznetsova EE, Gorokhova VG, Koriakina LB, Kuril'skaya TE, Pivovarov JuI. Structural and functional characteristics of membrane's erythrocyte and its change at pathologies of various genesis. *Bulletin of ESCC SB RAMS*. 2010; 3 (73): 334–354. [In Russ, English abstract].
 15. Bonarska-Kujawa D, Cyboran-Mikołajczyk S, Kleszczyńska H. Molecular mechanism of action of chlorogenic acid on erythrocyte and lipid membranes. *Molecular Membrane Biology*. 2015; 32 (2): 46–54.
 16. Дерюгина АВ, Иващенко МН, Игнатьев ПС, Лодяной МС, Самоделькин АГ. Изменение фазового портрета и электрофоретической подвижности эритроцитов при различных видах заболеваний. *Современные технологии в медицине*. 2019; 11 (2): 63–68. Deryugina AV, Ivashchenko MN, Ignatiev PS, Lodyanoy MS, Samodelkin AG. Alterations in the phase portrait and electrophoretic mobility of erythrocytes in various diseases. *Modern Technologies in Medicine*. 2019; 11 (2): 63–68. [In Russ, English abstract]. doi: 10.17691/stm2019.11.2.09.
 17. Дерюгина АВ, Абаева ОП, Романов СВ, Ведунова МВ, Рябова ЕН, Васенин СА, Тимова НА. Электрокине-

- тические, оксидантные и агрегационные свойства эритроцитов в послеоперационном периоде при трансплантации почки. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2020; 22 (2): 72–79. *Deryugina AV, Abaeva OP, Romanov SV, Vedunova MV, Ryabova EN, Vasenin SA, Titova NA*. Electrokinetic, oxidative and aggregation properties of red blood cells in the post-operative period following kidney transplantation. *Russian Journal of Transplantology and Artificial Organs*. 2020; 22 (2): 72–79. [In Russ, English abstract]. doi: 10.15825/1995-1191-2020-2-72-79.
18. *Искендеров Э, Кандога А, Менде К*. Влияние усилителя регенерации печени на течение реперфузионного повреждения *in vivo*. *Вестник Авиценны*. 2012; (4): 154–158. *Iskenderov E, Kandoga A, Mende K*. Effects of amplifier liver regeneration on the currency *in vivo* reperfusion injury. *Avicenna bulletin*. 2012; (4): 154–158. [In Russ, English abstract].
19. *Simmonds MJ, Herbert JM, Oguz KB*. Blood rheology and agin. *Journal of Geriatric Cardiology*. 2013; 10 (3): 291–301. doi: 10.3969/j.issn.1671-5411.2013.03.010.
20. *Шумилова АВ, Дерюгина АВ, Гордлеева СЮ, Бояринов ГА*. Действие цитофлавина на электрокинетические и агрегационные показатели эритроцитов в посттравматический период черепно-мозговой травмы в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018; 81 (3): 20–23. *Shumilova AV, Deryugina AV, Gordleeva SYu, Boyarinov GA*. Cytoflavin action on electro-kinetic and aggregation indices of erythrocytes in the post-traumatic period of cerebrocranial injury in experiment. *Éksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya*. 2018; 81 (3): 20–23. [In Russ, English abstract]. doi: 10.30906/0869-2092-2018-81-3-20-23.
21. *Moroz VV, Chernysh AM, Kozlova EK, Borshegovskaya PY, Bliznjuk UA, Rysaeva RM, Gudkova OY*. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. *Journal of Critical Care*. 2010; 25 (3): e531–512. doi: 10.1016/j.jcrc.2010.02.007.
22. *Nunomura W, Takakuwa Y, Parra M, Conboy J, Mohandas N*. Regulation of Protein 4.1R, p55, and Glycophorin C Ternary Complex in Human Erythrocyte Membrane. *The Journal of biological chemistry*. 2000; 275 (32): 24540–24546. doi: 10.1074/jbc.M002492200.
23. *Yamaguchi T, Fukuzaki S*. ATP effects on response of human erythrocyte membrane to high pressure. *Biophysics and physcobiology*. 2019; 16: 158–166. doi: 10.2142/biophysico.16.0_158.
24. *Glitsch HG*. Electrophysiology of the sodium-potassium-ATPase in cardiac cells. *Physiol Rev*. 2001; 81: 1791–1826. doi: 10.1152/физрев.2001.81.4.1791.
25. *Muravyov AV, Tikhomirova IA, Maimistova AA, Bulaeva SV, Zamishlayev AV, Batalova EA*. Crosstalk between adenylyl cyclase signaling pathway and Ca²⁺ regulatory mechanism under red blood cell microrheological changes. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2010; 45 (2–4): 337–345. doi: 10.3233/CH-2010-1317.

*Статья поступила в редакцию 22.07.2020 г.
The article was submitted to the journal on 22.07.2020*