

УДК 611.018.51:576.31

В.В. Рамазанов, О.А. Шапкина, В.А. Бондаренко

ИЗМЕНЕНИЕ ФОРМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНГИБИТОРА АНИОННОГО КАНАЛА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины (г. Харьков)

Данная работа является фрагментом научной темы «Механизмы изменения осмотической и температурной чувствительности клеток при действии модификаторов цитоскелет-мембранного комплекса, амфифильных веществ и криопротекторов» (№ государственной регистрации 0104U006437).

Вступление. В одной из моделей, касающихся механизма изменения формы эритроцитов, ключевая роль принадлежит анионному переносчику. По данной модели степень агрегатного состояния белков цитоскелета определяется соотношением двух основных конформаций анионного переносчика, которые, в свою очередь, зависят от характера распределения анионов по обе стороны мембраны, от их скорости транспорта и аффинности к транспортному сайту [16]. Согласно этому эхиноцитоз эритроцитов проявляется тогда, когда значительная часть переносчиков находится в конформации с транспортным сайтом, обращенным на внутреннюю сторону мембраны и при этом цитоскелет находится в сокращенном состоянии [17]. В соответствии с этой моделью развитие эхиноцитоза и стоматоцитоза эритроцитов, индуцируемых амфифильными реагентами и детергентами, блокируется вследствие ингибирования анионного канала [17]. Однако действие медленно проникающих анионов и ингибиторов не вполне согласуется с данной моделью. Включение эритроцитов в среду с медленно проникающими анионами или ингибиторами анионного канала приводит к перераспределению транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны, что, согласно описанной модели, должно приводить к стоматоцитозу, однако эритроциты во многих случаях приобретают форму эхиноцитов [17].

Во второй модели предполагается, что эхиноцитоз клеток, вызываемый ингибиторами анионного канала и медленно проникающими анионами, определяется перераспределением транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны и, вследствие этого, увеличением площади внешнего монослоя мембраны [7].

Образование стоматоцитов при снижении pH среды [6] согласуется с моделью, заключающейся в ключевой роли анионного переносчика в изменении формы эритроцитов [17], однако перераспределение при этом транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны по второй модели приводит к эхиноцитозу [7]. В связи с этим возникает необходимость решения вопроса о причине несоответствия двух имеющихся представлений о механизме изменения формы эритроцитов.

Цель работы – выявить причину несоответствия друг другу двух описанных моделей изменения формы эритроцитов.

Объект и методы исследования. В работе использовали NaCl (х.ч.), Na₂SO₄ (х.ч.), ДИДС (4,4'-диизотиоцианато-стильбен-2,2'-дисульфат, производства Sigma), сывороточный альбумин человека.

Эритроциты человека получали из донорской крови четырехкратным отмыванием раствором, содержащим 0,15 моль/л NaCl, 10 ммоль/л трис (pH 7,4).

Для обработки необратимым ингибитором анионного канала (ДИДС) эритроциты с гематокритом 20% суспендировали в среде, содержащей 0,15 моль/л NaCl, 10 ммоль/л трис (pH 7,4). ДИДС в конечной концентрации 100 мкмоль/л был добавлен в суспензию эритроцитов, которая инкубировалась при 37°C в течение 60 минут. Затем эритроциты 3 раза отмывали средой инкубации, содержащей 0,5% альбумина, с последующим двукратным отмыванием той же средой без альбумина. Подобная обработка ДИДС приводит к его ковалентному связыванию в анионном канале [10].

Для получения эритроцитов, нагруженных анионами сульфата эритроциты четырехкратно отмывали теплой (37°C) сульфатной средой, содержащей 45 ммоль/л K₂SO₄, 65 ммоль/л Na₂SO₄ и 10 ммоль/л трис (pH 7,4), центрифугировали при 3000 об/мин в течении 3 мин. Полученный осадок эритроцитов с гематокритом 2% взвешивали в сульфатной среде и инкубировали 10 мин при 37°C с последующим осаждением и ресуспендированием. Процедуру инкубации повторяли еще 2 раза, после чего клетки трехкратно отмывали теплой сульфатной средой, последний раз центрифугировали 5 мин. Полученный осадок эритроцитов хранился на ледяной бане. Установление равновесного значения pH при 37°C после включения эритроцитов в сульфатную среду без буфера происходит в течении 3-х минут, которые необходимы для завершения обмена внутриклеточного хлорида на внеклеточный сульфат [14], поэтому описанная процедура является достаточной для замещения хлорида на сульфат.

Морфологические изменения эритроцитов под действием альбумина и ингибитора анионного канала ДИДС изучали с помощью светового микроскопа. В суспензию эритроцитов с гематокритом 1,7% вносили реагенты: ДИДС, альбумин в концентрации 50 мкмоль/л и 1%, соответственно. Взвесь перемешивали и через 2 мин тестировали изменения морфологии эритроцитов в световом микроскопе.

Изменения формы эритроцитов в потоке при перемешивании клеточной суспензии в кювете исследовали методом регистрации изменений

флуктуации оптической плотности (ОП) взвешенных в растворах эритроцитов при перемешивании с частотой 5,0-7,1 Гц. Исследование проводили на спектрофотометре (СФ-4А), сопряженном с самописцем (регистрация уровня и флуктуации ОП клеточных суспензий при длине волны 720 нм). ОП суспензии эритроцитов в экспериментах составляла 0,3-0,35 единиц, что соответствовало гематокриту 0,02% ($\sim 3,0 \times 10^6$ кл./мл) [1].

Результаты исследований и их обсуждение. На рис. 1 представлены микрофотографии эритроцитов в среде, содержащей 0,15 моль/л NaCl, 10 ммоль/л трис (pH 7,4), в присутствии ДИДС и альбумина. Интактные клетки представлены в основном эхиноцитами.

Присутствие в среде ДИДС вызывает преобразование эритроцитов в сфероэхиноциты. При последующем добавлении альбумина клетки становились стоматоцитами.

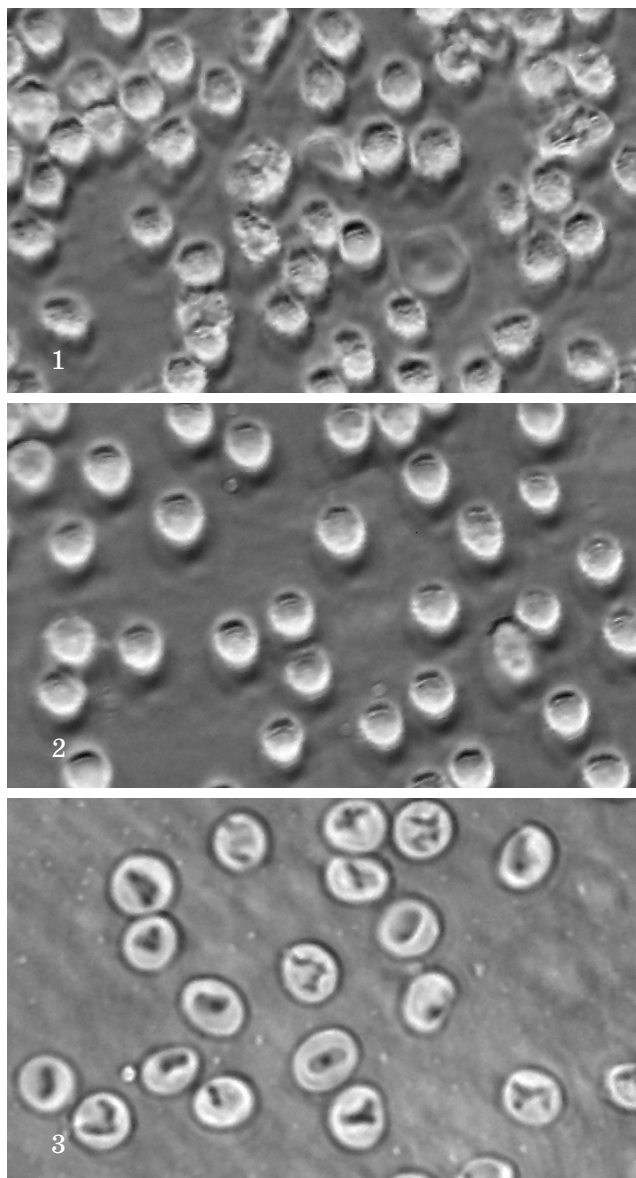


Рис. 1. Форма эритроцитов в среде, содержащей 0,15 моль/л NaCl, 10 ммоль/л трис (pH 7,4). 1 – контроль, 2 – ДИДС (50 мкмоль/л), 3 – после ДИДС добавлен альбумин (1 %).

Таким образом, результат действия ДИДС можно изменить при включении в среду альбумина. Это может быть связано с тем, что альбумин связывает ДИДС [13], поэтому последний переходит из мембраны в раствор. В связи с этим эритроциты были ковалентно мечены ДИДС. Результаты показали, что клетки, инкубированные с ДИДС, представлены сфероцитами, тем не менее, добавление в среду альбу-

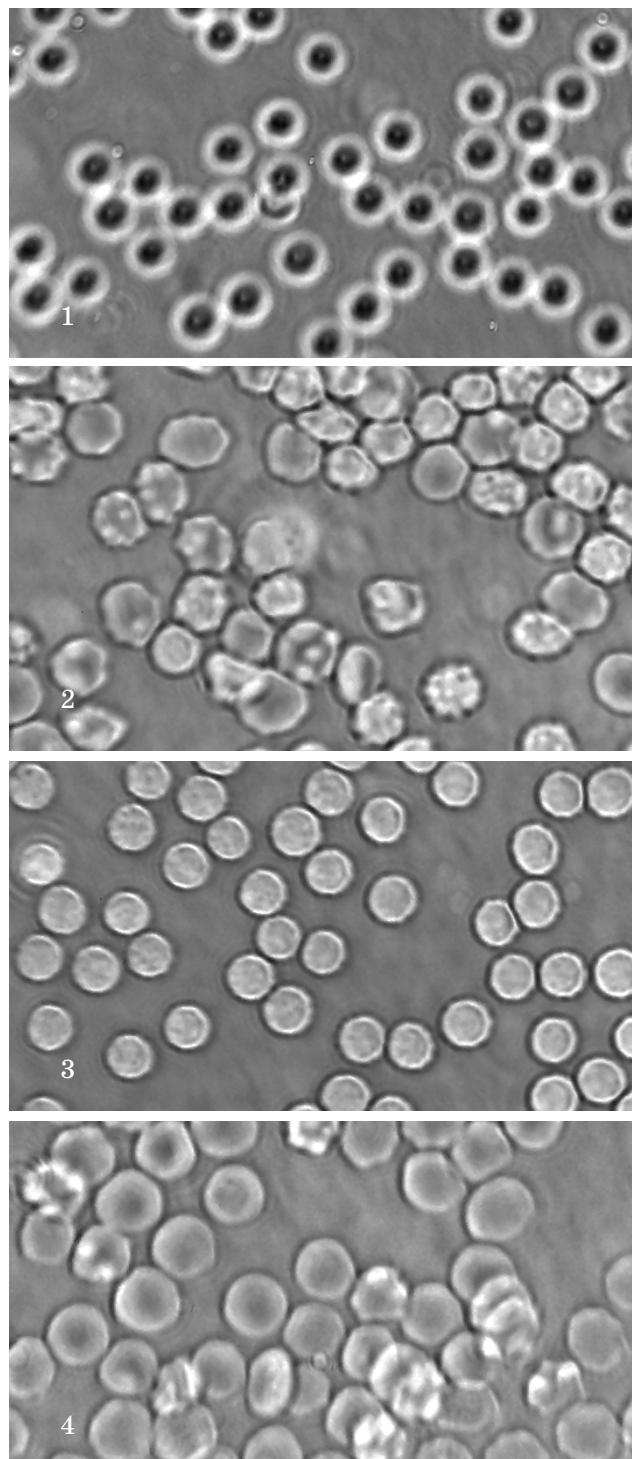


Рис. 2. Форма эритроцитов, отмытых после инкубации с ДИДС (1,2) или без него (3,4) в среде, содержащей 0,15 моль/л NaCl, 10 ммоль/л трис (pH 7,4). 2,4 – с альбумином (1 %).

мина приводит к образованию эхиноцитов и дискоцитов (**рис. 2, фото 1,2**). Эритроциты, которые параллельно были инкубированы без ДИДС, представлены сфероэхиноцитами, а включение в среду альбумина приводит к образованию дискоцитов и эхиноцитов (**рис. 2, фото 3,4**). В последнем случае выявляется большее количество дискоцитов (**рис. 2, фото 4**), по сравнению с ДИДС-модифицированными эритроцитами (**рис. 2, фото 2**).

Необходимо отметить, что добавление в среду альбумина после ДИДС приводит к образованию стоматоцитов (**рис. 1**), тогда как при обработке эритроцитов данным ингибитором включение в среду альбумина приводит к преобразованию клеток в эхиноциты и дискоциты (**рис. 2**). Данное различие, вероятно, связано с тем, что в первом случае ингибитор связывается не только с мембранами, но и с альбумином, изменяя его морфотрансформирующий эффект. Во втором случае ДИДС связан только с мембраной, а излишек его удален при отмывании клеток.

Таким образом, действие ДИДС приводит к образованию сфероцитов или сфероэхиноцитов. Данный результат не согласуется с моделью, в которой перераспределение транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны вызывает образование стоматоцитов [17], поскольку связывание ДИДС в анионном канале эритроцитов приводит к перераспределению и фиксации транспортных сайтов на внешней поверхности мембраны [3]. Кроме того, результат морфотрансформирующего действия ДИДС изменяется альбумином, т.е., в условиях, когда транспортные сайты обращены на внешнюю поверхность эритроцитов. В связи с этим необходимо отметить, что альбумин является модификатором электростатической структуры мембраны и необходим для экранирования зарядов поверхности мембраны и стабилизации дискоидной формы эритроцитов. При этом действие сфероцитирующих агентов устраняется плазмой или альбумином [9]. Необходимо отметить, что большинство ингибиторов анионного канала являются отрицательно заряженными и, нейтрализуя положительные заряды в канале и у входа в канал [4], могут увеличивать отрицательный заряд локальных участков мембраны. Поэтому нельзя исключить роль электростатических эффектов в механизме действия ДИДС на форму эритроцитов.

Описанные выше две модели механизма изменения формы эритроцитов находятся в противоречии, которое возможно разрешить с учетом модели, касающейся роли электростатических взаимодействий в изменении формы эритроцитов. В данном случае эхиноцитоз эритроцитов определяется отрицательными зарядами диссоциируемых головных групп мембранных липидов, которые экспонируются на внешнюю сторону мембраны, изменяя ее конформацию и форму из-за расширения внешнего монослоя вследствие усиления отталкивания между заряженными

группами или усиления гидратации этих групп [15].

Полученные результаты и данные литературы указывают на то, что модифицирующее влияние альбумина на действие ДИДС связано с изменением электростатической структуры мембраны. Это приводит к предположению о том, что существуют электростатические эффекты в изменении формы эритроцитов при связывании отрицательно заряженных ингибиторов анионного канала.

Таким образом, данные литературы и полученные результаты позволяют предположить, что действие ДИДС, которое не согласуется с моделью, заключающейся в ключевой роли анионного переносчика при изменении формы эритроцитов, связано не только с переориентацией транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны, но и с сопутствующим изменением ее электростатической структуры.

Для подтверждения данного предположения исследовали изменение формы эритроцитов методом регистрации флуктуации оптической плотности (ОП) перемешиваемой клеточной суспензии. Интенсивность прошедшего светового потока через перемешиваемую суспензию эритроцитов усиливается при набухании и гемолизе клеток. При изменении формы эритроцитов (при постоянном объеме) от асимметричных форм (дискоциты и неправильные формы) до симметричных (сфероциты, сфероэхиноциты, сферостоматоциты) интенсивность выходящего светового потока уменьшается, как при уменьшении объема клеток. Интенсивность флуктуации ОП определяется соотношением асимметричных и симметричных форм эритроцитов. Чем выше содержание асимметричных форм клеток, тем сильнее флуктуация ОП и наоборот [1, 9]. Таким образом, используя данный подход, можно оценить изменение формы эритроцитов под воздействием различных реагентов.

Результаты исследования флуктуации ОП суспензии эритроцитов в среде, содержащей 0,15 моль/л NaCl, 10 ммоль/л трис (рН 7,4), показывают, что действие ДИДС приводит к некоторому повышению ОП и устранению ее флуктуации (**рис. 3, дорожка 1**). Данные результаты указывают на то, что ДИДС изменяет асимметричные формы эритроцитов на симметричные. В данном случае асимметричные формы могут быть представлены не только дискоцитами, но и дискоэхиноцитами и стоматоцитами. После воздействия

ДИДС симметричные формы могут быть представлены эхиноцитами, сфероэхиноцитами и сфероцитами.

Таким образом, можно сделать заключение, что некоторое повышение ОП с устранением ее флуктуации под действием ДИДС связано с переходом асимметричных форм клеток в симметричные. Данный результат согласуется с результатами морфологических исследований (**рис. 1,2**).



Рис. 3. Изменение флуктуации оптической плотности суспензии эритроцитов, 1 – стрелками показано последовательное добавление ДИДС (5мкмоль/л) и альбумина (0,02%). 2,3 – изменение интенсивности флуктуации оптической плотности суспензии эритроцитов, меченных ДИДС: 2 – в отсутствии альбумина, 3 – в присутствии альбумина.

Как показано на рис. 3 (дорожка 1) эффект ДИДС устраняется при последующем добавлении альбумина. Более того, при предварительной обработке эритроцитов ДИДС, которая приводит к необратимому связыванию ингибитора в анионном канале [10], и отмытии несвязанного остатка данного реагента, действие альбумина также выявляется (рис. 3, дорожка 3). Клетки, меченные ДИДС, проявляют развитие флуктуации ОП с последующим ее затуханием (рис. 3, дорожка 2). Интенсивность флуктуации ОП суспензии эритроцитов, меченных ДИДС на 2-3 минуте вполне сравнима с таковой для интактных клеток. Очевидно, в процессе перемешивания клеточной суспензии, в клетках, меченных ДИДС, происходят обратимые изменения симметричных форм к асимметричным формам и опять к симметричным (рис. 3, дорожка 2). Однако включение в среду альбумина перед внесением в нее эритроцитов приводит к развитию значительной флуктуации ОП, которая интенсивнее, чем для интактных клеток (рис. 3, дорожка 3). Данные результаты указывают на то, что образование асимметричных форм эритроцитов происходит тогда, когда транспортные сайты фиксированы ДИДС на внешней стороне мембраны, то есть индукция асимметричности клеток альбумином не зависит от того, необратимо связан ингибитор в анионном канале или нет. Из этого следует, что эффект альбумина не связан с исключением из мембран эритроцитов ДИДС, а, вероятно, определяется его электростатическим действием. Кроме того, молекула ДИДС отрицательно заряжена и способна нейтрализовать положительные заряды в анионном канале и у входа в канал [4]. На осно-

вании этого, можно предположить, что перемещение транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны при связывании ДИДС, недостаточно в его формотрансформирующем действии, а, вероятно, необходимо одновременное изменение заряда локальных участков мембраны у входа в анионный канал. Данное предположение согласуется с подобным предположением, сделанным на основе морфологических результатов (рис. 1,2). Не исключено, что обратимое изменение симметричности ДИДС-меченных эритроцитов в потоке при перемешивании (рис.3, дорожка 2) может быть связано с обратимым изменением электростатической структуры мембраны.

Согласно одной из моделей, изменение формы эритроцитов определяется отрицательными зарядами липидов, которые экспонируются на внешнюю сторону мембраны. Повышение pH среды приводит к диссоциации головных групп мембранных липидов и усилению отталкивания между заряженными группами или усилению гидратации этих групп, что приводит к расширению внешнего монослоя, изменению конформации мембраны и ее формы [15].

С одной стороны, связывание ДИДС в анионном канале приводит к повышению отрицательного заряда на мембране, что может приводить к эхиноцитозу, с другой стороны, смещение транспортных сайтов канала на внешнюю сторону мембраны вызывает стоматоцитоз [17]. В связи с этим, эхиноцитоз, вызываемый ДИДС, не согласуется с моделью, заключающейся в ключевой роли анионного переносчика в регуляции формы эритроцитов [17].

Известно, что снижение рН внешней среды приводит к увеличению отношения Cl_{in}^-/Cl_{out}^- в эритроцитах [8]. Согласно логическому следствию функционирования анионного переносчика по механизму «пинг-понг», увеличение концентрации Cl_{in}^- в клетке или замена хлорида внешней среды на медленно проникающий сульфат вызывает перераспределение транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны [5, 12].

Результаты показали, что эритроциты в среде, содержащей анионы SO_4^{2-} , не индуцируют флуктуацию ОП по сравнению с Cl^- -средой и действие ДИДС не выявляется (рис. 4, дорожка 3). Полученные результаты согласуются с тем, что в сульфатной среде эритроциты становятся эхиноцитами [7]. Однако в суспензии клеток, нагруженных анионами SO_4^{2-} , отмечается флуктуация ОП и действие ДИДС как в SO_4^{2-} -среде, так и в Cl^- -среде (рис. 4, дорожки 2,4). Подобный результат отмечается в среде с непроницающим цитратом (рис. 4, дорожки 5,6). В среде со значением рН равным 6,6 или 5,8 выявляется устранение действия ДИДС на флуктуацию ОП (рис. 4, дорожки 7,8).

Полученные результаты показывают зависимость действия ДИДС от характера распределения транспортных сайтов по обе стороны мембраны.

При условиях близких к физиологическим основная часть транспортных сайтов анионных каналов мембран эритроцитов (90 %) локализуется на внутренней стороне мембраны [2] – в данном случае эффект ДИДС на устранение флуктуации ОП отмечается (рис. 4, дорожка 1). Согласно механизму последовательного переноса анионов при их обмене через мембрану («пинг-понг»), замена в среде аниона Cl^- на SO_4^{2-} или на цитрат приведет к переходу транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны так как проницаемость эритроцитов для SO_4^{2-} на 4-5 порядков меньше, чем для Cl^- , а цитрат не проникает в эритроциты [11] – в данном случае эффект ДИДС не выявляется (рис. 4, дорожки 3,5). В эритроцитах, нагруженных сульфатом, присутствие сульфата внутри клетки, согласно механизму «пинг-понг», приведет к переходу основной части транспортных сайтов на внутреннюю сторону мембраны – в данном случае эффект ДИДС проявляется во всех использованных средах (рис. 4, дорожки 2,4,6). Когда транспортные сайты перераспределяются на внешнюю сторону мембраны, при снижении рН среды – эффект ДИДС не выявляется (рис. 4, дорожки 7,8). Полученные результаты указывают на то, что для формотрансформирующего действия ДИДС необходимо, чтобы изначально зна-

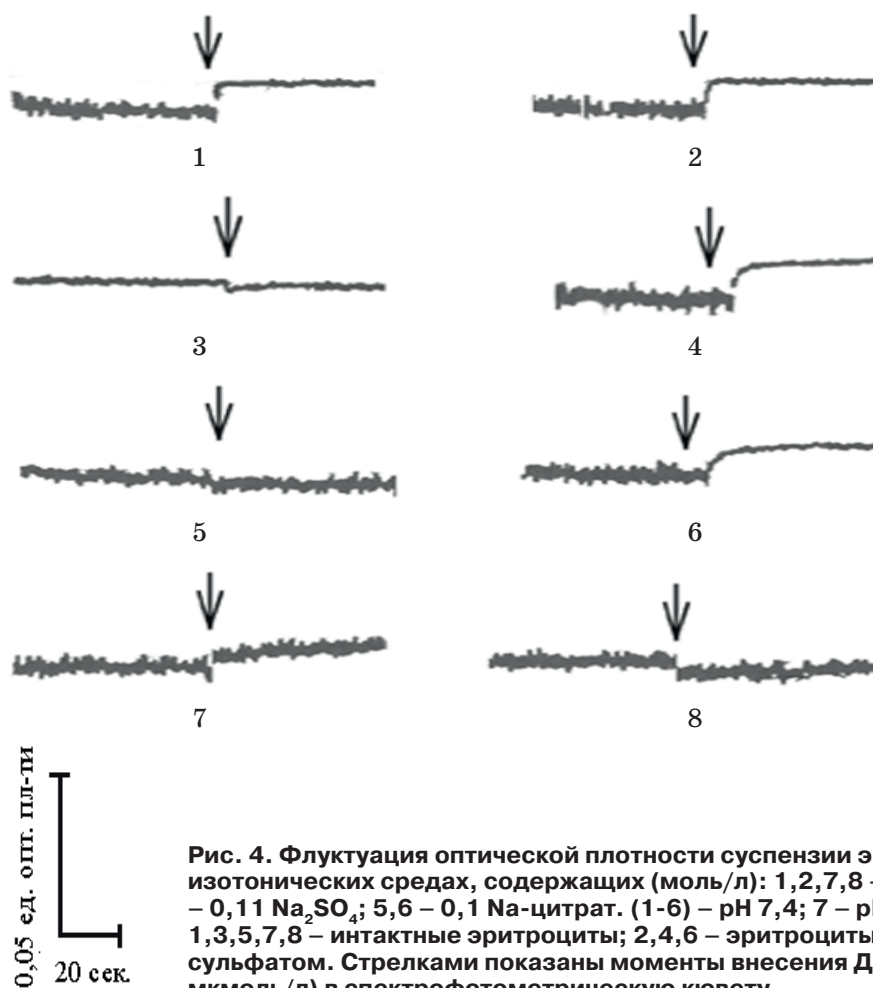


Рис. 4. Флуктуация оптической плотности суспензии эритроцитов в изотонических средах, содержащих (моль/л): 1,2,7,8 – 0,15 NaCl; 3,4 – 0,11 Na_2SO_4 ; 5,6 – 0,1 Na-цитрат. (1-6) – рН 7,4; 7 – рН 6,6; 8 – рН 5,8. 1,3,5,7,8 – интактные эритроциты; 2,4,6 – эритроциты, нагруженные сульфатом. Стрелками показаны моменты внесения ДИДС (5 мкмоль/л) в спектрофотометрическую кювету.

чительная доля транспортных сайтов локализовалась на внутренней стороне мембраны.

Таким образом, полученные результаты по исследованию эффекта ДИДС на морфологию и изменение формы эритроцитов в суспендированном состоянии при перемешивании в зависимости от анионного состава внеклеточной и внутриклеточной среды и рН позволяют предположить, что механизм действия ДИДС на форму эритроцитов определяется переориентацией транспортных сайтов с внутренней стороны на внешнюю сторону мембраны с параллельным изменением заряда мембраны. Несоответствие сферозхиноцитогенных эффектов ингибитора анионного канала ДИДС модели, заключающейся в ключевой роли анионного переносчика в изменении формы эритроцитов, связано с тем, что действие ДИДС на форму эритроцитов определяется не только перераспределением и фиксированием транспортных сайтов на внешней стороне мембраны, но и изменением заряда локальных участков мембраны.

Выводы.

1. Интактные эритроциты в среде, содержащей 0,15 моль/л NaCl, 10 ммоль/л трис (рН 7,4), представлены эхиноцитами. В среде, содержащей ингибитор анионного канала ДИДС, интактные клетки становятся сферозхиноцитами, а при последующем включении альбумина в среду — стоматоцитами. ДИДС-меченные эритроциты являются сфероцитами, а при действии альбумина клетки преобразуются по форме и становятся эхиноцитами и дискоцитами.

2. Включение ДИДС в суспензию эритроцитов вызывает устранение флуктуации оптической плотности (ОП), последующее внесение альбумина в среду восстанавливает флуктуацию ОП. При этом альбумин вызывает развитие флуктуации ОП в суспензии эритроцитов, необратимо меченных ДИДС.

3. Замена в среде аниона хлорида на непроницающий цитрат приводит к устранению эффекта ДИДС на флуктуацию ОП суспензии эритроцитов. При использовании в эксперименте эритроцитов, нагруженных анионами сульфата, эффект ДИДС на флуктуацию ОП суспензии таких клеток выявляется в хлоридной, сульфатной и цитратной средах.

Перспективы дальнейших исследований. В последующей работе планируется исследовать морфологию эритроцитов в средах с различным содержанием хлорида и сульфата, которые позволят изменять характер распределения транспортных сайтов анионного переносчика по обе стороны мембраны.

УДК 611.018.51:576.31

ЗМІНА ФОРМИ ЕРИТРОЦИТІВ ПІД ДІЄЮ ІНГІБІТОРА АНІОННОГО КАНАЛУ

Рамазанов В. В., Шапкина О. О., Бондаренко В. А.

Резюме. Досліджували зміну форми еритроцитів під дією інгібітора аніонного каналу ДІДС, альбуміну, аніонів сульфату і цитрату. Встановлено, що морфотрансформуюча дія ДІДС усувається при включенні у середовище альбуміну. Заміщення у середовищі аніону хлориду на цитрат призводить до усунення ефекту ДІДС на флуктуацію оптичної щільності клітинної суспензії. При використанні в експерименті еритроцитів, що навантажені аніонами сульфату, дія ДІДС, щодо усунення флуктуації

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Руденко С.В. Изменение формы эритроцитов в зависимости от времени / С.В. Руденко, Дж.Х. Кроув, Ф. Таблин // Биохимия. — 1998. — Т. 63, Вып. 12. — С. 1630–1639.
2. Cabantchik Z. I. The anion transport system of the red blood cell. The role of membrane protein evaluated by use of "probes" / Z.I. Cabantchik, P.A. Knauf, A. Rothstein // Biochim. Biophys. Acta. — 1978. — Vol. 515. — P. 239–302.
3. Falke J.J. Direct observation of the transmembrane recruitment of band 3 transport sites by competitive inhibitors. A ³⁵Cl NMR study/ J.J. Falke, R.J. Pace, S.I. Chan // J Biol Chem. — 1984. — V. 148. — P.5370–5380.
4. Falke J.J. Molecular mechanisms of band 3 inhibitors. 3. Translocation inhibitors / J.J. Falke, S.I. Chan // Biochemistry. — 1986. — Vol. 25, № 24. — P. 7899–7906.
5. Furuya W. Transmembrane effects of intracellular chloride on the inhibitory potency of extracellular H₂DIDS. Evidence for two conformations of the transport site of the human erythrocyte anion exchange protein / W. Furuya, T. Tarshis, F. Law, P.A. Knauf // J. Gen. physiol. — 1984. — Vol. 83. — P. 657–681.
6. Gedde M.M. Shape response of human erythrocytes to altered cell pH / M.M. Gedde, E. Yang, W.H. Huestis // Blood. — 1995. — Vol. 86, № 4. — P. 1595–1599.
7. Gimsa J. Do band 3 protein conformational changes mediate shape changes of human erythrocytes / J. Gimsa, C. Ried // Mol Membr Biol. — 1995. — Vol. 12, № 3. — P. 247–254.
8. Glaser R. Stationary ionic states in human red blood cells / R. Glaser, J. Donath // Bioelectrochem. Bioenerg. — 1984. — Vol. 13. — P. 71–83.
9. Hoffman J.F. On the mechanism and measurement of shape transformations of constant volume of human red blood cells / J.F. Hoffman // Blood Cells. — 1987. — Vol. 12, № 3. — P. 565–588.
10. Hsu L. The interaction of human erythrocyte band 3 with cytoskeletal components / L. Hsu, M. Morrison // Arc. Biochem. Biophys. — 1983. — Vol. 227, № 1. — P. 31–38.
11. Jennings M.L. Stoichiometry of a half-turnover of band 3, the chloride transport protein of human erythrocytes / M.L. Jennings // J. Gen. Physiol. — 1982. — Vol. 79. — P. 169–185.
12. Knauf P.A. Substrate-dependent reversal of anion transport site orientation in the human red blood cell anion-exchange protein, AE1 / P.A. Knauf, F.Y. Law, T.W. Leung, et al. // Proc Natl Acad Sci U S A. — 2002. — Vol. 99, № 16. — P. 10861–10864.
13. Kubota K. Effects of 4,4'-diisothiocyanato-stilbene-2,2'-disulfonic acid (DIDS) and chlorpromazine on NO₃-transport via anion exchanger in erythrocytes: inertness of DIDS in whole blood / K. Kubota, T. Ishibashi, T. Matsubara, et al. // J Pharmacol Sci. — 2003. — Vol. 93, № 4. — P. 505–508.
14. Romano L. Characterization of anion transport system in trout red blood cell / L. Romano, H. Passow // Am. J. Physiol. — 1984. — Vol. 246. — P. 330–338.
15. Tamura A. Detection of the electrical surface charge induced by treatment of the membrane lipid bilayer of human erythrocytes / A. Tamura, K. Morita, T. Fujii, K. Kojima // Cell Struct. Func. — 1982. — Vol. 7. — P. 21–27.
16. Wong P. A basis of the acanthocytosis in inherited and acquired disorders / P. Wong // Med Hypotheses. — 2004. — Vol. 62, № 6. — P. 966–969.
17. Wong P. A basis of echinocytosis and stomatocytosis in the disc-sphere transformations of the erythrocyte / P. Wong // J Theor Biol. — 1999. — Vol. 196, № 3. — P. 343–361.

оптичної щільності суспензії цих клітин визначається у хлоридному, сульфатному та цитратному середовищах.

Отримані результати дозволяють припустити, що механізм дії ДІДС на форму еритроцитів визначається реакцією переорієнтації транспортних сайтів на зовнішню поверхню мембрани і змінюваням заряду мембрани при скріпленні цього інгібітору в аніонному каналі.

Ключові слова: форма еритроцитів, інгібітор аніонного каналу.

УДК 611.018.51:576.31

ИЗМЕНЕНИЕ ФОРМЫ ЭРИТРОЦИТОВ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ИНГИБИТОРА АНИОННОГО КАНАЛА

Рамазанов В. В., Шапкина О. А., Бондаренко В. А.

Резюме. Исследовали изменение формы эритроцитов под действием ингибитора анионного канала ДИДС, альбумина, анионов сульфата и цитрата. Установлено, что морфотрансформирующее действие ДИДС устраняется при включении в среду альбумина. Замена в среде аниона хлорида на цитрат приводит к устранению эффекта ДИДС на флуктуацию оптической плотности клеточной суспензии. При использовании в эксперименте эритроцитов, нагруженных анионами сульфата, действие ДИДС на устранение флуктуации оптической плотности суспензии таких клеток выявляется в хлоридной, сульфатной и цитратной средах.

Полученные результаты позволяют предположить, что механизм действия ДИДС на форму эритроцитов определяется реакцией переориентации транспортных сайтов на внешнюю сторону мембраны и изменением заряда мембраны при связывании данного ингибитора в анионном канале.

Ключевые слова: форма эритроцитов, ингибитор анионного канала.

UDC 611.018.51:576.31

CHANGE of ERYTHROCYTE SHAPE under INHIBITOR EFFECT of ANIONIC CHANNEL

Ramazanov V. V., Shapkina O. A., Bondarenko V. A.

Summary. Change of erythrocyte shape under the effect of DIDS anionic channel inhibitor, albumin, sulfate anions and citrate was investigated. It has been established that morphotransforming effect of DIDS is eliminated when introducing albumin into the medium. Substitution of anion chloride to citrate in the medium results in elimination of DIDS effect on fluctuation of optical density of cell suspension. When using in the experiment erythrocytes, loaded with sulfate anions, effect of DIDS on elimination of fluctuation of optic density of suspension of such cells is revealed in chloride, sulfate and citrate media.

The findings enable the supposition that mechanism of DIDS action on erythrocyte shape is determined by reorientation reaction of transport sites on exterior side of membrane and change of membrane charge when binding this inhibitor in anion channel.

Key words: erythrocyte shape, inhibitor of anionic channel.

Стаття надійшла 18.10.2010 р.

УДК 616-006.312-036.12:611.018.74

О.І. Ромаданова

ІНДИКАТОРИ СТАНУ КЛІТИННИХ МЕХАНІЗМІВ ПРОГРЕСУВАННЯ ХРОНІЧНОЇ ХВОРОБИ НИРОК У ПАЦІЄНТІВ З ГІПЕРТОНІЧНОЮ ХВОРОБОЮ

Харківський національний медичний університет МОЗ України (м. Харків)

Дослідження виконано у межах дисертаційної роботи «Клітинні механізми прогресування хронічної хвороби нирок та шляхи її корекції» та НДР кафедри пропедевтики внутрішньої медицини №2 (наук. керівник - з.д.т.н. України, Лауреат Державної премії України у галузі науки і

техніки, проф. Ж.Д. Семидоцька) Харківського національного медичного університету «Хронічна ниркова недостатність: предиктори прогресування та вторинна профілактика» (держреєстрація №0102U001863; 2004-2009 р.).