

РЕГУЛЯЦИЯ АСИММЕТРИЧНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В МЕМБРАНЕ ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА В ПРИСУТСТВИИ ГЛИЦЕРИНА И ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

© 2020 г. Н. Г. Землянских*

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, 61016 Украина

*E-mail: nzemliansky@gmail.com

Поступила в редакцию 09.10.2019 г.

После доработки 28.10.2019 г.

Принята к публикации 01.11.2019 г.

Криопротекторные агенты (КПА), используемые для защиты эритроцитов при замораживании, могут влиять на структурные и функциональные параметры мембраны, от которых зависит жизнеспособность клеток. Цель работы заключалась в исследовании влияния глицерина и ПЭГ на экстернализацию фосфатидилсерина (ФС) на поверхность эритроцитов, а также в определении роли ионов Ca^{2+} и АТФ-зависимых процессов в регуляции трансмембранной асимметрии липидов в присутствии данных КПА. Установлено, что действие глицерина на эритроциты не ведет к экстернализации ФС. Поддержание активностей скрамблаз и флипаз в эритроцитах в присутствии глицерина на уровне контрольных параметров позволяет им реагировать на повышение $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$, вызванное кальциевым ионофором А23187, и блокирование АТФазных реакций, обусловленное ванадатом, подобно нативным клеткам. Действие ПЭГ способствует нарушению распределения ФС в мембране благодаря изменениям активностей липидных транслоказ. При этом активация скрамблаз и (или) ингибирование флипаз под влиянием ПЭГ не достигают максимальных значений, о чем свидетельствует увеличение количества эритроцитов с экстернализованным ФС при нагрузке клеток Ca^{2+} с помощью ионофора и ингибирования АТФ-зависимых реакций ванадатом. Действие ПЭГ на липидную асимметрию мембран эритроцитов, по-видимому, опосредовано его влиянием на уровень Ca^{2+} в клетке. Нарушения структурных параметров мембраны, обусловленные перераспределением ФС в присутствии ПЭГ, отличающие его от действия глицерина, могут быть причиной нестабильности криоконсервированных эритроцитов в физиологических условия *in vitro*.

Ключевые слова: эритроцит, мембрана, фосфатидилсерин, кальций, глицерин, полиэтиленгликоль, криопротекторный агент

DOI: 10.31857/S0041377120020078

Плазматические мембраны эукариотических клеток характеризуются асимметричным трансмембранным распределением фосфолипидов (Op den Kamp, 1979). В наружном слое мембраны преобладают сфингомиелин и фосфатидилхолин, а фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин преимущественно локализованы во внутреннем слое. Различия в составе фосфолипидов внешнего и внутреннего слоев мембраны определяют особенности их физических свойств и играют важную роль в формировании специфического микроокружения периферических и интегральных белковых компонентов (Marsh, 1995), а также создают оптимальные условия для их регуляторного контроля трансдуктивными сигналами вторичных мессенджеров (Hinderliter et al., 2004).

Принятые сокращения: КПА – криопротекторный агент, ПЭГ – полиэтиленгликоль, ФС – фосфатидилсерин, $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ – внутриклеточная концентрация ионов Ca^{2+} .

Поддержание композиционных различий между липидными слоями мембраны во многом определяется медленной скоростью флип-флопа (Nakano et al., 2009; Contreras et al., 2010), обусловленной высокой энергией активации прохождения гидрофильной головной группы фосфолипида через гидрофобную часть мембраны. Вместе с тем трансмембранная асимметрия липидов контролируется активными транспортными процессами (Arashiki, Takakuwa, 2017). Скрамблазы, флипазы и флопазы представляют 3 типа транслоказ, различающихся направлением переноса липидов и источником энергии для их функционирования. Скрамблазы разрушают асимметричное распределение липидов, перенося их из одного слоя в другой по концентративному градиенту без затрат энергии (Hankins et al., 2015). Флипазы, транспортирующие аминофосфолипиды (главным образом ФС) из внешнего слоя мембраны во внутренний, обеспечивают восстановление липидной асимметрии при ее нарушении так же, как и