ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕМИНА

В. В. Мороз, Е. К. Козлова, А. М. Черныш, О. Е. Гудкова, А. В. Бушуева

НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского РАМН, Москва

Hemin-Induced Changes in the Red Blood Cell Membrane Structure

V. V. Moroz, E. K. Kozlova, A. M. Chernysh, O. E. Gudkova, A. V. Bushuyeva

V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Цель исследования — исследовать изменение наноструктуры мембран эритроцитов при воздействии гемина на кровь в различных концентрациях. Материал и методы. Исследования проводили in vitro на цельной крови человека, в которую добавляли гемин. Наноструктуру мембран эритроцитов изучали с помощью атомной силовой микроскопии. Заключение. Экспериментально установлено, что гемин оказывал специфическое воздействие на наноструктуру мембран эритроцитов, образуя домены на поверхности. Характерный размер зернистых структур в доменах составил 100–200 нм, что совпадает с характерным размером спектринового матрикса. Эффект образования доменов носил пороговый характер и проявлялся только при определенных концентрациях (1,3–1,7 мМ). Данные результаты могут быть положены в основу изучения воздействия производных гемоглобина на красные клетки крови. Ключевые слова: мембраны эритроцитов, гемин, наноструктура, атомная силовая микроскопия.

Objective: to determine whether the supplementation with hemin affects the nanostructure of red blood cell memranes. *Subjects and methods*. Human whole blood was supplemented or not with hemin and nanostructure of red blood cell membranes was studied using atomic force microscopy. *Conclusion*. Experiments demonstrated that hemin exerted a specific effect on the nanostructure of red blood cell membranes to form domains upon their surface. The size of granular structures in the domains was 100–200 nm, which coincides with that of a spectrin matrix. The effect of domain generation possesed threshold character starting from hemine concentrations of 1.3–1.7 mM. These results demonstrate the potential of the use of nanostructural changes within the erythrocyte membrane as surrogate biomarkers of erythrocyte response to hemoglobin derivatives in future studies. *Key words*: red blood cell membranes, hemin, nanostructure, atomic force microscopy.

Эритроциты содержат красный пигмент крови гемоглобин. Его молекула состоит из четырех полипептидных цепей, с каждой из которых связана пигментная группа — гем. Гем представляет собой протопорфирин, содержащий центрально расположенный ион двухвалентного железа (Fe²⁺) (рис. 1, a). Оксигенация (присоединение кислорода к гемоглобину) не меняет валентность железа. При отрыве электрона от атома железа его валентность меняется, оно становится трехвалентным (Fe³⁺). Этот процесс называется окислением железа. Образование Fe³⁺ происходит при воздействии свободных радикалов. Свободные радикалы образуются при различных критических состояниях, в том числе при гипероксигенации, действии ионизирующего излучения. Гемоглобин с трехвалентным железом (окисленный гемоглобин) не способен переносить кислород к тканям. Окисленный гем (Fe³⁺) называется гематином (рис. 1, б), а вся полипептидная молекула в целом метгемоглобином [1, 2].

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Козлова Елена Карловна (Kozlova E. K.) E-mail: orbf@mail.ru У здоровых людей метгемоглобин присутствует всегда, но в незначительном количестве (0,1–1%). Однако некоторые вещества (анилин и его производные), некоторые лекарства, определенные яды (нитриты и нитраты, нафталин, окиси азота) и другие способны окислять Fe^{2+} до Fe^{3+} , увеличивая количество производных гемоглобина.

Окисление гема может происходить и при выходе гемоглобина из клетки в кровеносное русло, при кровопотере. Малярия, серповидно-клеточная анемия и ишемия могут привести к чрезмерному образованию гемина, который в свою очередь вызывает гемолиз эритроцитов [2, 3]. Гемин (солянокислый гематин) (рис. 1, *в*) возникает и при воздействии на гемоглобин ферментов желудочного сока и соляной кислоты. Кровоточащие язвы и эрозии желудка сопровождаются присутствием гемина и отличаются черным цветом [4]. Окислительные процессы возникают и развиваются и при действии ионизирующего излучения [5].

Кроме этого, производные гемоглобина могут нарушить структуру мембран эритроцитов [6]. Так, гемин нарушает конформацию спектрина, белка band 4.1 и ослабляет связь между ними. Нарушение структуры мембран эритроцитов может сопровождаться изменением функционального состояния клеток [7, 8].



Рис. 1. Гемоглобин и его производные, структурные формулы. *а* – молекула гемоглобина; *б* – гематин; *в* – гемин.

Наиболее информативным методом исследования структуры мембран красных клеток крови является атомная силовая микроскопия (ACM). ACM изображения позволяют выявить изменения наноструктуры мембран клеток после различных физических и химических воздействий [9—13].

Целью данной работы является исследование особенностей изменения структуры мембран эритроцитов при воздействии гемина с помощью ACM.

Материал и методы

Кровь и растворы. Забор крови (200 мкл) производили у пяти доноров в микроветты с ЭДТА (Sarstedt AG and Co., Germany) при профилактических осмотрах. В соответствии с требованиями этического комитета НИИ общей реаниматологии имени В.А.Неговского РАМН было получено согласие всех доноров на проведение исследований.

Интоксикацию крови гемином производили *in vitro*. Для приготовления рабочего раствора использовали сухой гемин (Sigma, USA). Сначала растворяли 200 мг NaOH в 10 мл дистиллированной воды. Затем 50 мг сухого гемина растворяли в 1 мл этого раствора и добавляли 5 мл дистиллированной воды. Полученный рабочий раствор вводили в различных объемах в микроветты с кровью для получения различных концентраций гемина. Конечная концентрация гемина в крови составляла в наших опытах 0,3—1,8 мМ. Время воздействия варьировали от 2 до 60 мин.

Монослой клеток получали с помощью устройства V-Sampler (Austria).

Получение изображений с помощью ACM. Изображения клеток и их мембран получали с помощью ACM NTEGRA Prima, (NT-MDT, Russia) в полуконтактном режиме. Использовали кантилеверы NSG01 (force constant 5 N/m). Число точек в скане — 512 и 1024. Поле сканирования — 100×100, 10×10 мкм. Для получения информативных оценок поверхности мембран использовали метод пространственного Фурьеразложения на три составляющие. Ранее в наших работах и работах других авторов показано, что эти оценки наноструктур поверхности являются собственными параметрами мембраны [9, 14]. Эти параметры объективно описывают структуру мембраны как до, так и после воздействия.

Результаты и обсуждение

При воздействии раствора гемина на кровь наблюдалось изменение формы клеток и структуры их мембран (рис. 2). При малых концентрациях гемина (0,5–1 мМ) в монослое преобладали стоматоциты и плоские клетки (рис. 2, δ , δ). Их форма близка к контрольным дискоцитам (рис. 2, a). При концентрациях гемина (1,3–1,7 мМ) в монослое наблюдались клетки с выраженными характерными структурами на их поверхности — доменами (рис. 2, z). При больших концентрациях гемина происходило зарождение эхиноцитов (рис. 2, d) и образование мелких сфероэхиноцитов (рис. 2, e). С ростом концентрации гемина и времени его воздействия происходила последовательная трансформация формы клеток от дискоцитов до сфероэхиноцитов.

Формы клеток (рис. 2, *a*, *b*, *b*, *d*, *e*) наблюдались и при других воздействиях на кровь [10, 11, 13, 14]. Однако тип клеток, выделенный на рис. 2, *г* кругом, возникал именно после воздействия гемина. На поверхности клетки наблюдались зернистые наноструктуры, объединенные в домены.

Статистические распределения разных типов клеток при концентрациях гемина 0; 0,3 и 1,5 мМ представлены на рис. 3. Данные получены для времени воздействия раствора гемина 20 мин. В опытах установлено, что в одном монослое не могут присутствовать клетки только одного вида. Так, даже в контрольном мазке 75% клеток — дискоциты, а 25% — клетки с глубокой впадиной (рис. 3, а). При концентрации С=0,3 mM большинство клеток 80% — с глубокой впадиной, 15% — стоматоциты (рис. 3, б), также появляются плоские клетки — 5%. При концентрации C=1,5 mM плоских клеток становится больше — 12%, основную долю 65% составляют клетки с характерными доменами — наноструктуры в виде зерен, 15% клеток — зарождающиеся эхиноциты, и 8% клеток — сфероэхиноциты (рис. 3, *в*).

Было установлено, что образование на поверхности мембран доменов с зернами внутри — пороговый эффект. При отклонении от концентрации на 20% появление таких наноструктур не наблюдалось.

Домены на поверхности мембран эритроцитов характерны именно для воздействия гемина на кровь (рис. 4). На рис. 4, *а* представлен контрольный дискоцит. Затем в кровь добавили гемин (стрелка). На поверхности эритроцитов возникали домены (рис. 4, *б*). На этом рисунке, представленном в поле сканирования 8×8 мкм, располагаются около 12 доменов. Для деталь-

Оригинальные исследования



Рис. 2. Формы клеток при добавлении гемина в различных концентрациях в кровь. **3D**-изображения, полученные с помощью ACM. *a* – дискоцит; *б* – стоматоцит; *в* – плоская клетка; *г* – плоская клетка с доменами из зерен, данный вид клеток выделен овалом; *д* – формирование выростов (спикул), превращение в эхиноцит; *е* – сфероэхиноцит.



Рис. 3. Статистическое распределение различных видов клеток в монослое при различных концентрациях гемина. *a* − C=0 мМ (контроль); *δ* − C=0,29 мМ; *в* − C=1,5 мМ. На рисунке приведены ACM 3D-изображения клеток и указано соответствующее процентное содержание их в монослое. С − концентрация гемина. Для каждого вида клеток показана шкала их высот.



Рис. 4. Возникновение доменов на мембране эритроцитов при воздействии гемина на кровь, С=1.5 мМ. АСМ 3D-изображения. *а* – контрольная клетка (C=0); *б* – клетка после воздействия гемина, кругом выделен один из доменов с характерной регулярной наноструктурой в виде зерен; *в* – выделенный домен увеличенный; *г* – профиль структур в домене.

ного анализа структуры один из них, выделенный окружностью, показан на рис. 4, *в* в поле сканирования 0,8×0,8 мкм, а на рис. 4, *г* показан его профиль.

Все домены состоят из регулярных наноструктур в виде дискретной совокупности зерен.

На профиле показана структурная периодичность зерен в пространстве. Характерный размер периода на профиле составляет L 140±60 нм. Высота структур достигает 12±4 нм.

В зависимости от концентрации гемина в крови изменялось количество зерен в одном домене. При концентрации 1,3 мМ количество зерен в домене составляло 3±1. При концентрации 1,5 мМ среднее число зерен в одном домене составляло 10±6.

Число доменов на мембране составляло 4±2 при малых концентрациях гемина. При концентрации 1.5 мМ их число увеличивалось до 14±4. Размеры доменов были от 200 нм до 1500 нм.

С ростом концентрации гемина происходило слияние доменов и зерен внутри них. Это в конечном счете приводило к образованию спикул и к формированию эхиноцитов (рис. 2, ∂) и сфероэхиноцитов (рис. 2, e).

В результате, в опытах *in vitro* наблюдалось специфическое изменение наноструктуры мембран красных клеток крови. Образовывались кластеры — домены, в которых проявлялась зернистая структура. Эти кластеры были типичны именно для воздействия гемина и по виду отличались от нарушений на поверхности мембраны при других воздействиях [11, 13, 15].



Рис. 5. Гистограмма распределения количества зерен в домене. Апроксимация нормальным законом распределения.

Таким образом, следует отметить, что окисленный гем (Fe³⁺), с одной стороны, не способен присоединять кислород [1], с другой стороны, вызывает изменение наноструктуры мембраны.

Пространственный период наблюдаемых структур соизмерим с размером ячеек спектринового матрикса. Мембрана красных клеток крови состоит из бислоя липидов, мембранных белков и спектринового матрикса, размер ячейки которого 80—200 нм [16—18]. Липидный бислой связан со спектриновым матриксом в определенных местах соединения с помощью белков band 3, band 4.1, анкирина, актина и др. Связь липидного бислоя и спектринового матрикса может нарушаться при окислительных процессах в крови, при воздействии фармацевтических и химических препаратов, при действии ионизирующего излучения [5, 8, 10, 11]. В работах ряда авторов [8, 19] показано, что гемин может разрушать спектрин, влиять на band 4.1, ослаблять связь спектрин — band 4.1, ослаблять стабильность мембранного цитоскелета. Эти данные получены на основе изучения гемолиза эритроцитов и электронной микроскопии фрагментов молекул спектрина.

В опытах, представленных в данной работе, нам удалось без нарушения целостности клетки наглядно показать результат воздействия гемина (Fe³⁺) на конформацию соединительного комплекса «спектрин-белки band 4.1, band 3», что проявилось в локальных нарушениях наноструктуры мембран эритроцитов.

Действие препарата было статистически неоднородным по поверхности мембраны. Это могло быть связано с возможной неоднородностью распределения концентрации гемина в объеме крови и с неоднородностью структуры мембраны эритроцита. На статистическое распределение областей зарождения и развития доменов мог повлиять эффект колебаний мембраны — flickering [20]. Появление дискретных зерен вызвано воздействием гемина на узлы соединения спектрина с мембранными белками. В результате возникали локальные провалы в мембране глубиной 8—16 нм.

Литература

- Belcher J.D., Beckman J.D., Balla G., Balla J., Vercellotti G. Heme degradation and vascular injury. Antioxid. Redox. Signal. 2010; 12 (2): 233–248.
- Gatidis S., Foller M., Lang F. Hemin-induced suicidal erythrocyte death. Ann. Hematol. 2009; 88 (8): 721–726.
- Li S.D., Su Y.D., Li M., Zou C.G. Hemin-mediated hemolysis in erythrocytes: effects of ascorbic acid and glutathione. Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). 2006; 38 (1): 63–69.
- Kanias T., Acker J.P. Mechanism of hemoglobin-induced cellular injury in desiccated red blood cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2010; 49 (4): 539-547.
- Kozlova E.K., Cherniaev A.P., Alekseeva P.Iu., Blizniuk U.A., Chernysh A.M., Nazarova M.A. The diagnostic of membranes' state after exposure of gamma-radiation of small doses. Radiats. Biol. Radioecol. 2005; 45 (6): 653-656.
- Cui Y., Guo Z., Zhao Y., Zheng Y., Qiao Y., Cai J., Liu S. Reactive effect of low intensity He-Ne laser upon damaged ultrastructure of human erythrocyte membrane in Fenton system by atomic force microscopy. Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). 2007; 39 (7): 484–489.
- Umbreit J. Methemoglobin-it's not just blue: a concise review. Am. J. Hematol. 2007; 82 (2): 134–144.
- Solar I., Muller-Eberhard U., Shviro Y., Shaklai N. Long-term intercalation of residual hemin in erythrocyte membranes distorts the cell. Biochim. Biophys. Acta. 1991; 1062 (1): 51–58.
- Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Borshegovskaya P.Y., Bliznjuk U.A., Rysaeva R.M., Gudkova O.Y. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. J. Crit. Care. 2010; 25 (3): e1-e12.
- Черныш А.М., Козлова Е.К., Мороз В.В., Борщеговская П.Ю., Близнюк У.А., Рысаева Р.М. Поверхность мембран эритроцитов при калиброванной электропорации: исследование методом атомной силовой микроскопии. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2009; 148 (9): 347–352.
- Мороз В.В., Черныш А. М., Козлова Е.К., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Федорова М.С., Кирсанова А.К., Новодержкина И.С. Нарушения наноструктуры мембран эритроцитов при острой кровопотере и их коррекция перфторуглеродной эмульсией. Общая реаниматология. 2011; 7 (2): 5–9.
- Мороз В.В., Кирсанова А.К., Новодержкина И.С., Козлова Е.К., Борщеговская П.Ю., Близнюк У.А., Александрин В.В., Черныш А.М. Из-

В опытах также установлено, что появление типичных кластеров на поверхности мембраны при воздействии гемина явилось пусковым механизмом изменения формы клетки — постепенно формировались эхиноциты, а затем и сфероэхиноциты. При этом происходило значительное уменьшение диаметра клетки и увеличение ее высоты. Так, если в контрольном мазке диаметр эритроцита составлял около 7,5 мкм, то у сфероэхиноцита он уменьшался до 5,5 мкм. Эти изменения хорошо интерпретируются на основе механизма нарушения спектринового комплекса при воздействии гемина на красные клетки крови.

Заключение

С помощью метода атомной силовой микроскопии экспериментально установлено, что гемин оказывает специфическое воздействие на наноструктуру мембран эритроцитов, образуя домены на поверхности. Это в конечном счете приводит к изменению формы клеток. Данное исследование может быть положено в основу изучения механизма интенсивного действия окислительных процессов различного происхождения (длительное хранение крови, действие ионизирующего излучения, интоксикация химфармпрепаратами) на мембраны красных клеток крови и может помочь выбрать правильную тактику лечения пациентов при критических состояниях.

менения ультраструктуры поверхности мембран эритроцитов после кровопотери и их коррекция лазерным облучением. Общая реаниматология. 2010; 6 (2): 5–9.

- Мороз В.В., Голубев А.М., Черныш А.М., Козлова Е.К., Васильев В.Ю., Гудкова О.Е., Сергунова В.А., Федорова М.С. Изменения структуры поверхности мембран эритроцитов при длительном хранении донорской крови. Общая реаниматология. 2012; 8 (1): 5–12.
- Girasole M., Pompeo G., Cricenti A., Longo G., Boumis G., Bellelli A., Amiconi S. The how, when, and why of the aging signals appearing on the human erythrocyte membrane: an atomic force microscopy study of surface roughness. Nanomedicine. 2010; 6 (6): 760–768.
- Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Sergunova V., Gudkova O., Fedorova M., Kuzovlev A. Opposite effects of electroporation of red blood cell membranes under the influence of zinc ions. Acta Bioeng. Biomech. 2012; 14 (1): 3–13.
- Moroz V.V., Kirsanova A.K., Novodergkina I.S., Alexandrin V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K. Macro- and microstructure of erythrocyte membranes under acute massive hemorrhage and subsequent blood reinfusion. Semin. Cardiothorac. Vasc. Anesth. 2010; 14 (4): 248-255.
- 17. Mohandas N., Gallagher P.G. Red cell membrane: past, present, and future. Blood. 2008; 112 (10): 3939-3948.
- Kodippili G.C., Spector J., Sullivan C., Kuypers F.A., Labotka R., Gallagher P.G., Ritchie K., Low P.S. Imaging of the diffusion of single band 3 molecules on normal and mutant erythrocytes. Blood. 2009; 113 (24): 6237–6245.
- Chernysh A.M., Kozlova E.K., Moroz V.V. Nanostructure of red blood cell membrane under critical state. Atomic force microscopy and calibrated electroporation. European Summit for Clinical Nanomedicine. Conference proceedings. Loffler B., Hunziker P. (ed.). Basel, Switzerland; 2012: 112–113.
- Park Y., Best C.A., Auth T., Gov N.S., Safran S.A., Popescu G., Suresh S., Feld M.S. Metabolic remodeling of the human red blood cell membrane. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010; 107 (4): 1289–1294.

References

 Belcher J.D., Beckman J.D., Balla G., Balla J., Vercellotti G. Heme degradation and vascular injury. Antioxid. Redox. Signal. 2010; 12 (2): 233-248.

- Gatidis S., Foller M., Lang F. Hemin-induced suicidal erythrocyte death. Ann. Hematol. 2009; 88 (8): 721–726.
- Li S.D., Su Y.D., Li M., Zou C.G. Hemin-mediated hemolysis in erythrocytes: effects of ascorbic acid and glutathione. Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). 2006; 38 (1): 63–69.
- Kanias T., Acker J.P. Mechanism of hemoglobin-induced cellular injury in desiccated red blood cells. Free Radic. Biol. Med. 2010; 49 (4): 539–547.
- Kozlova E.K., Cherniaev A.P., Alekseeva P.Iu., Blizniuk U.A., Chernysh A.M., Nazarova M.A. The diagnostic of membranes' state after exposure of gamma-radiation of small doses. Radiats. Biol. Radioecol. 2005; 45 (6): 653-656.
- Cui Y., Guo Z., Zhao Y., Zheng Y., Qiao Y., Cai J., Liu S. Reactive effect of low intensity He-Ne laser upon damaged ultrastructure of human erythrocyte membrane in Fenton system by atomic force microscopy. Acta Biochim. Biophys. Sin. (Shanghai). 2007; 39 (7): 484–489.
- Umbreit J. Methemoglobin-it's not just blue: a concise review. Am. J. Hematol. 2007; 82 (2): 134–144.
- Solar I., Muller-Eberhard U., Shviro Y., Shaklai N. Long-term intercalation of residual hemin in erythrocyte membranes distorts the cell. Biochim. Biophys. Acta. 1991; 1062 (1): 51–58.
- Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Borshegovskaya P.Y., Bliznjuk U.A., Rysaeva R.M., Gudkova O.Y. Comparison of red blood cell membrane microstructure after different physicochemical influences: atomic force microscope research. J. Crit. Care. 2010; 25 (3): e1-e12.
- Chernysh A.M., Kozlova E.K., Moroz V.V., Borshchegovskaya P.Yu., Bliznyuk U.A., Rysaeva R.M. Poverkhnost membran eritrotsitov pri kalibrovannoi elektroporatsii: issledovanie metodom atomnoi silovoi mikroskopii. [Erythrocyte membrane surface after calibrated electroporation: Visualization by atomic force microscopy]. Byulleten Eksperimentalnoi Biologii i Meditsiny. 2009; 148 (9): 347–352. [In Russ.]
- Moroz V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Fedorova M.S., Kirsanova A.K., Novoderzhkina I.S. Narusheniya nanostruktury membran eritrotsitov pri ostroi krovopotere i ikh korrektsiya perftoruglerodnoi emulsiei. [Impairments in the nanostructure of red blood cell membranes in acute blood loss and their correction with perfluorocarbon emulsion]. Obshchaya Reanimatologia. 2011; 7 (2): 5–9. [In Russ.]
- Moroz V.V., Kirsanova A.K., Novoderzhkina I.S., Kozlova E.K., Borshchegovskaya P.Yu., Bliznyuk U.A., Aleksandrin V.V., Chernysh A.M.

Izmeneniya ultrastruktury poverkhnosti membran eritrotsitov posle krovopoteri i ikh korrektsiya lazernym oblucheniem. [Changes in the ultrastructure of the surface of red blood cell membranes after blood loss and their correction with laser irradiation]. *Obshchaya Reanimatologiya*. 2010; 6 (2): 5–9. [In Russ.]

- Moroz V.V., Golubev A.M., Chernysh A.M., Kozlova E.K., Vasilyev V.Yu., Gudkova O.E., Sergunova V.A., Fedorova M.S. Izmeneniya struktury poverkhnosti membran eritrotsitov pri dlitelnom khranenii donorskoi krovi. [Structural changes in the surface of red blood cell membranes during long-term donor blood storage]. Obshchaya Reanimatologia. 2012; 8 (1): 5-12. [In Russ.]
- Girasole M., Pompeo G., Cricenti A., Longo G., Boumis G., Bellelli A., Amiconi S. The how, when, and why of the aging signals appearing on the human erythrocyte membrane: an atomic force microscopy study of surface roughness. Nanomedicine. 2010; 6 (6): 760–768.
- Kozlova E., Chernysh A., Moroz V., Sergunova V., Gudkova O., Fedorova M., Kuzovlev A. Opposite effects of electroporation of red blood cell membranes under the influence of zinc ions. Acta Bioeng. Biomech. 2012; 14 (1): 3–13.
- Moroz V.V., Kirsanova A.K., Novodergkina I.S., Alexandrin V.V., Chernysh A.M., Kozlova E.K. Macro- and microstructure of erythrocyte membranes under acute massive hemorrhage and subsequent blood reinfusion. Semin. Cardiothorac. Vasc. Anesth. 2010; 14 (4): 248–255.
- Mohandas N., Gallagher P.G. Red cell membrane: past, present, and future. Blood. 2008; 112 (10): 3939–3948.
- Kodippili G.C., Spector J., Sullivan C., Kuypers F.A., Labotka R., Gallagher P.G., Ritchie K., Low P.S. Imaging of the diffusion of single band 3 molecules on normal and mutant erythrocytes. Blood. 2009; 113 (24): 6237-6245.
- Chernysh A.M., Kozlova E.K., Moroz V.V. Nanostructure of red blood cell membrane under critical state. Atomic force microscopy and calibrated electroporation. European Summit for Clinical Nanomedicine. Conference proceedings. Loffler B., Hunziker P. (ed.). Basel, Switzerland; 2012: 112–113.
- Park Y., Best C.A., Auth T., Gov N.S., Safran S.A., Popescu G., Suresh S., Feld M.S. Metabolic remodeling of the human red blood cell membrane. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010; 107 (4): 1289–1294.

Поступила 25.05.12

КАЛЕНДАРЬ НАУЧНЫХ КОНГРЕССОВ, КОНФЕРЕНЦИЙ, СИМПОЗИУМОВ, ШКОЛ, СЕМИНАРОВ В 2013 гг.

1-3 февраля, Vienna, Austria

5 международный симпозиум по женскому здоровью в рамках Гемостаза (5th International Symposium on Women's Health Issues in Thrombosis and Haemostasis)

3-7 февраля, Сидней, Австралия

3-й мировой конгресс региональной анестезии и лечения боли

14–17 марта, Las Vegas, USA Общество анестезиологов педиатрии

19–22 Mapra, Brussel, Belgium 33st International Symposium on Intensive Care and Emergency Medicine (ISICEM) *www.intensive.org*

март, Москва, Россия

IX Международная Пироговская Студенческая Научная Медицинская Конференция www.pirogovka.rsmu.ru

март, Голицыно, Московская область, Россия Ежегодная сессия Московского научного общества анестезиологов-реаниматологов (МНОАР) *E-mail: vmmzkv@gmail.com* 15—19 апреля, Москва, Россия

XX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» www.medlife.ru

11—14 апреля, Regensburg, Germany ESCVS (International Congress of European Society for Cardiovascular Surgery) International Congress

18–19 апреля, Vienna, Austria 4th Annual Symposium Network for Advancement of Transfusion Alternatives (NATA) *www.nataonline.com*

23–27 апреля, Bangkok, Thailand IV World Anesthesia Convention 2013 – NWAC 2013

2—3 мая, Ghent, Belgium

Первый европейский конгресс по реанимации и экстренной медицины в педиатрии (The First European Pediatric Resuscitation & Emergency Medicine Congress) www.prem2013.be