

## Эффекты взаимодействия белковых компонентов мембраны эритроцитов у здоровых лиц и больных язвенным колитом

Сергеева А.С., Пивоваров Ю.И., Дмитриева Л.А., Сай О.В.

ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дмитриева Людмила Аркадьевна, e-mail: viclud2009@mail.ru

### Резюме

**Обоснование.** Известно, что при язвенном колите происходит нарушение барьерной функции слизистой оболочки толстой кишки, что может приводить к патологическим изменениям внутри клеток, в том числе и в мембранах красных клеток крови. Стабильность мембраны эритроцитов и её способность к деформации во многом зависит от состава и взаимодействия белковых структур внутри неё. Установлено значительное снижение содержания основных белковых компонентов мембраны эритроцитов при язвенном колите в сравнении со здоровыми людьми.

**Цель исследования.** Учитывая имеющиеся данные, нами было проведено дополнительное исследование с целью анализа эффектов взаимоотношений белковых компонентов цитоплазматической мембраны эритроцитов у больных язвенным колитом и клинически здоровых людей.

**Материалы и методы.** В исследовании принимали участие мужчины и женщины с язвенным колитом в период обострения ( $n = 51$ ) и клинически здоровые лица, сопоставимые по полу и возрасту ( $n = 30$ ). Проводили анализ эффектов взаимодействия десяти основных белковых компонентов мембраны эритроцита. Для каждого исследуемого белка определяли его среднее значение, а внутри изучаемых групп все белки были разделены на две категории – выше и ниже их среднего уровня. Для количественной оценки вклада каждого выявленного фактора использовали дисперсионный анализ.

**Результаты.** Обнаружено, что эффект взаимосвязи присущ далеко не всем категориям белковых компонентов. При язвенном колите исчезают эффекты взаимодействия с такими важными структурными белками, как спектрины и анкирин. Во влиянии на белок полосы 4.1, в отличие от клинически здоровых лиц, появляется новый независимый фактор – глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа, а в воздействии на актин – анион-транспортный белок.

**Заключение.** При язвенном колите в мембране красных клеток крови происходят значительные изменения, приводящие к нарушению взаимосвязей между белками, снижению общего содержания исследуемых белков и утрате некоторых эффектов воздействия независимых факторов на уровень тех или иных белковых структур. Основываясь на полученных данных, можно вносить корректировки в лечение язвенного колита с целью укрепления мембраны эритроцитов.

**Ключевые слова:** эритроцит, мембранные белки, язвенный колит

**Для цитирования:** Сергеева А.С., Пивоваров Ю.И., Дмитриева Л.А., Сай О.В. Эффекты взаимодействия белковых компонентов мембраны эритроцитов у здоровых лиц и больных язвенным колитом. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 39-46. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.5

## Effects of Interaction of Protein Components of Erythrocyte Membrane in Healthy Individuals and Patients with Ulcerative Colitis

Sergeeva A.S., Pivovarov Yu.I., Dmitrieva L.A., Sai O.V.

Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Lyudmila A. Dmitrieva, e-mail: viclud2009@mail.ru

### Abstract

**Background.** It is known that in ulcerative colitis there is a violation of the barrier function of the colon mucosa, which can lead to pathological changes inside cells, including in the membranes of red blood cells. The stability of the erythrocyte membrane and its ability to deform largely depends on the composition and interaction of protein structures inside it. A significant decrease in the content of the main protein components of the erythrocyte membrane in ulcerative colitis was found in comparison with healthy people.

**Aim of the research.** Taking into account the available data, we conducted an additional study to analyze the effects of the relationship between the protein components of the cytoplasmic membrane of erythrocytes in patients with ulcerative colitis and clinically healthy people.

**Materials and methods.** The study involved men and women with ulcerative colitis in the period of exacerbation ( $n = 51$ ) and clinically healthy individuals matched by sex and age ( $n = 30$ ). The analysis of the interaction effects of ten main protein components of the erythrocyte membrane was carried out. For each protein under study, its average value was determined, and within the studied groups all proteins were divided into two categories – above and below their average level. Analysis of variance was used to quantify the contribution of each identified factor.

**Results.** It was found that the effect of the relationship is not inherent in all categories of protein components. In ulcerative colitis, the effects of interaction with such important structural proteins as spectrins and ankyrin disappear. In the effect of band 4.1 protein, in contrast to clinically healthy individuals, a new independent factor appears – glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, and in the effect on actin – an anion-transport protein.

**Conclusion.** In ulcerative colitis, significant changes occur in the membrane of red blood cells, leading to a violation of the relationships between proteins, a decrease in the total content of the studied proteins and the loss of some of

*the effects of independent factors on the level of certain protein structures. Based on the findings, adjustments can be made to the treatment of ulcerative colitis in order to strengthen the erythrocyte membrane.*

**Key words:** erythrocyte, membrane proteins, ulcerative colitis

**For citation:** Sergeeva A.S., Pivovarov Yu.I., Dmitrieva L.A., Sai O.V. Effects of Interaction of Protein Components of Erythrocyte Membrane in Healthy Individuals and Patients with Ulcerative Colitis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 39-46. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.5

### ОБОСНОВАНИЕ

Установлено, что при язвенном колите (ЯК) происходит нарушение барьерной функции слизистой оболочки толстой кишки. Это приводит к накоплению токсических веществ в клетках различных органов, что может приводить к патологическим изменениям внутри клеток, в том числе и в мембранах красных клеток крови [1]. Так, авторами было показано статистически значимое повышение у пациентов с ЯК уровня мембраносвязанного гемоглобина в эритроците, а также увеличение показателя сорбционной способности эритроцита [1]. При оценке компонентов фосфорного спектра клеточных мембран обнаружено увеличение концентрации неорганического фосфата и снижение уровня 2,3-дифосфоглицерата, что свидетельствует о нарушении энергетических процессов в клеточных мембранах у больных. Кроме того было установлено, что у таких пациентов снижается уровень восстановленного глутатиона [2]. Доказано, что такие нарушения в период обострения ЯК носят хронический характер, а при достижении ремиссии заболевания структурно-функциональные свойства мембраны полностью не восстанавливаются [1].

Мембрана красных клеток крови на 40–60 % состоит из белковых структур, которые принимают участие в адгезии клеток крови, обладают ферментативной активностью, а также могут выполнять транспортную и сигнальную функции [3]. Многими исследованиями доказана важная роль эритроцитов в регуляции различных метаболических процессов как в условиях нормы, так и при различных патологиях [4, 5]. Стабильность мембраны эритроцитов и её способность к деформации во многом зависит от состава и взаимодействия белковых структур внутри неё. При длительном течении заболевания происходят структурно-функциональные изменения в мембранах клеток. В ранее проведённых нами исследованиях представлены данные об изменениях структурно-функциональных свойств белков мембраны эритроцитов у больных эссенциальной артериальной гипертензией, осложнённой и не осложнённой метаболическим синдромом [6], а также данные о значимых изменениях белкового состава мембраны красных клеток крови при ЯК [7]. В частности, было показано значительное снижение содержания основных белковых компонентов мембраны эритроцитов при ЯК в сравнении со здоровыми людьми [7].

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

С учётом уже имеющихся данных, была поставлена следующая цель исследования – провести анализ эффектов взаимоотношений исследуемых белковых компонентов цитоплазматической мембраны эритроцитов у больных ЯК и клинически здоровых людей.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена с соблюдением этических норм медицинских исследований с участием человека, изложенных в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Исследование проведено в соответствии

с протоколом № 9 от 09.11.2012 г. комитета по биомедицинской этике ФГБНУ ИНЦХТ. В исследовании принимали участие мужчины и женщины с ЯК в период острой атаки ( $n = 51$ ). Средний возраст пациентов –  $38,7 \pm 1,9$  года, средняя длительность заболевания –  $5,7 \pm 0,9$  года. Для сравнения выявленных закономерностей у больных с нормой все изучаемые параметры определялись у клинически здоровых людей ( $n = 30$ ), сопоставимых по полу и возрасту. У пациентов обеих групп проводили забор периферической венозной крови и осаждали эритроцитарную массу, отмывая её от сыворотки в физиологическом растворе (NaCl). Далее проводили процедуру выделения фракции мембран эритроцитов по методу Dodge [8].

Выделение и очистку водорастворимой фракции белков мембраны эритроцитов проводили в холодной комнате ( $+4$  °C). Суспензию мембран исследуемых клеток замораживали в жидком азоте и гомогенизировали с добавлением фенилметилсульфонилфторида (PMSF) (BioChemica, Германия) в 0,1 М Трис-HCl-буфере с 0,1% додецилсульфатом натрия (SDS) (Gerbu, Германия) (pH 7,6). Полученную вытяжку трёхкратно центрифугировали при 15000 g. Выделенный суммарный белок осаждали четырёхкратным объёмом ацетона и растворяли в 0,5 М Трис-HCl-буфере (pH 6,8). Концентрацию полученного общего белка определяли по методу Брэдфорда [9].

Для разделения белков по молекулярному весу проводили электрофорез по методу Лэммли [10] в полиакриламидном геле (ПААГ) с концентрацией разделяющего геля 7,5 % и 15 % в присутствии SDS. На каждый трек наносили по 10 мкг суммарного белка. Окраску гелей осуществляли раствором Кумасси R-250 (Sigma, США). Вид каждого отдельного белка на электрофореграмме определяли с использованием набора маркеров фирмы Thermo Scientific (#26614, Литва). В результате обработки 324 электрофореграмм провели оценку содержания 10 мембранных белков эритроцитов, из них структурные белки –  $\alpha$ -спектрин,  $\beta$ -спектрин, анкирин, актин и тропомиозин, интегральные – анион-транспортный белок (АТБ), белок полосы 4.1, транспортёр глюкозы и ферментативные – глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа (Г-3-ФДГ) и глутатион-S-трансфераза (Глут-S-Транс). Содержание каждого исследуемого белка определяли по площади под пиком максимальной интенсивности окраски Кумасси R-250, с применением компьютерной программы [11].

Для каждого исследуемого белка, как у пациентов, так и у здоровых лиц, определяли его среднее значение, а внутри каждой группы уровни всех белков разделили на две категории – выше и ниже их среднего уровня.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10. При этом использовали модуль дисперсионного анализа главных эффектов (Maineffects ANOVA). Вклад каждого белка (фактора) в изменение зависимой переменной (ЗП) оценивали по формуле:  $ЗП = (SSc / SSoc) \times 100 \%$ , где ЗП – зависимая переменная; SSc – сумма квадратов отклонений, вызванная фактором(и); SSoc – общая сумма квадратов отклонений.

Для количественной оценки характера изменения средней величины ЗП при различном сочетании двухуровневых факторов применяли модуль экспериментального планирования для трёх и двух факторов воздействия на ЗП (экспериментальный дизайн, DOE). Ниже приведены планы, используемые нами в ходе исследований, где А, В, С, D и Е являлись независимыми факторами (табл. 1).

**Таблица 1**  
Модуль экспериментального планирования для трёх и двух факторов воздействия на зависимую переменную (экспериментальный дизайн, DOE)

**Table 1**  
Experimental planning module for three and two factors influencing the dependent variable (design of the experiment)

№ п/п	План: 2 <sup>(3-0)</sup>			План: 2 <sup>(2-0)</sup>	
	А	В	С	D	Е
1	ниже	ниже	ниже	ниже	ниже
2	выше	ниже	ниже	выше	ниже
3	ниже	выше	ниже	ниже	выше
4	выше	выше	ниже	выше	выше
5	ниже	ниже	выше		
6	выше	ниже	выше		
7	ниже	выше	выше		
8	выше	выше	выше		

Рассматривались только те планы, при которых все независимые факторы оказывали значимое влияние на ЗП с вероятностью не ниже 0,95 %. Перед выполнением анализов проводилась проверка на нормальность распределения и однородность дисперсии всех исследуемых ЗП.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружено, что эффект взаимосвязи присущ далеко не всем категориям белковых компонентов. Так, в группе здоровых людей была выявлена сопряжённость  $\alpha$ - и  $\beta$ -спектринов с тремя белками: белок полосы 4.1, анкирин и актин. Вклад каждого белка в изменение уровня спектринов был разным и соответственно эффекты взаимодействия  $\alpha$ - и  $\beta$ -спектринов с выявленными белками также были различным (табл. 2).

Кроме этого, в группе здоровых людей была обнаружена сопряжённая связь белка полосы 4.1 с АТБ и транспортёром глюкозы, связь анкирина с АТБ, транспортёром глюкозы и Г-3-ФДГ, а также актина с белком полосы 4.1 и Глут-S-Транс (табл. 2).

Следует отметить, что общая степень влияния обнаруженных белков на уровень  $\alpha$ - и  $\beta$ -спектринов и полосы 4.1 находилась в пределах 40 %, в то время как степень влияния выявленных факторов на уровень

**Таблица 2**  
Главные эффекты двух и трёх двухуровневых факторов на белковые компоненты мембраны эритроцитов у клинически здоровых лиц

**Table 2**  
Main effects of two and three two-level factors on the protein components of the erythrocyte membrane in clinically healthy individuals

Белки	Факторы	SS	сс	F	p	%
$\alpha$ -спектрин	Белок полосы 4.1	0,468	1	6,81	0,015	15,3
	Анкирин	0,287	1	4,17	0,049	9,4
	Актин	0,510	1	7,15	0,011	16,7
	Ошибка	1,789	27			41,4
	Всего	3,054	29			
$\beta$ -спектрин	Белок полосы 4.1	0,613	1	7,866	0,009	17,5
	Анкирин	0,418	1	5,365	0,029	11,9
	Актин	0,453	1	5,818	0,023	12,9
	Ошибка	2,026	27			42,3
	Всего	3,510	29			
Белок полосы 4.1	АТБ	0,255	1	13,73	0,001	27,1
	Транспортёр глюкозы	0,259	1	13,99	0,001	27,5
	Ошибка	0,427	28			54,6
	Всего	0,941	29			
Анкирин	АТБ	0,062	1	6,646	0,018	14,9
	Транспортёр глюкозы	0,067	1	7,152	0,014	16,1
	Г-3-ФДГ	0,092	1	9,850	0,005	22,1
	Ошибка	0,195	27			53,1
	Всего	0,416	29			
Актин	Белок полосы 4.1	0,462	1	12,1	0,002	37,4
	Глут-S-Транс	0,244	1	6,39	0,019	19,7
	Ошибка	0,529	28			57,1
	Всего	1,235	29			

**Примечание (здесь и далее).** SS – межвыборочная дисперсия; Ошибка – внутривыборочная дисперсия; Всего – общая изменчивость; сс – число степеней свободы; % – проценты вклада каждого фактора и их сумма.

белка полосы 4.1, анкирина и актина превышала 50 %. Также интересным представляется то, что состав независимых выявленных факторов для разных белков оказался различным, кроме спектринов. Обнаружено, что наибольшую роль в воздействии на исследуемые белки оказывают белок полосы 4.1 и АТБ. Полученные данные не противоречат ранее проводимым исследованиям в области эритроцитарной мембраны.

В группе пациентов с ЯК было обнаружено значительно меньшее количество сопряжённых связей белковых компонентов мембраны эритроцитов, чем в группе здоровых людей. Так был выявлен эффект воздействия АТБ, транспортёр глюкозы и Г-3-ФДГ на белок полосы 4.1. При этом ведущую роль в этом эффекте играет уровень АТБ (52,6 %) Общий вклад изменения содержания данных белков в изменение уровня белка полосы 4.1 составил 62,4 % (табл. 3). Также обнаружен эффект воздействия Глут-S-Транс, полосы 4.1 и АТБ на актин. В данном случае воздействие Глут-S-Транс и белка полосы 4.1 было примерно одинаковое (26,8 и 24 % соответственно), а эффект влияния АТБ на актин был в меньшей степени (15,4 %). Общий вклад этих белков в изменение содержания актина составил 66,2 % (табл. 3).

Таким образом, при ЯК исчезли эффекты взаимодействия с такими важными структурными белками, как спектрины и анкирин. Во влиянии на белок полосы 4.1, в отличие от клинически здоровых лиц, появился третий независимый фактор – Г-3-ФДГ, а в воздействии на актин – АТБ. Все эти данные позволяют предполагать о дестабилизации эритроцитарной мембраны при данной патологии.

Используя полученные данные, нами были составлены модели с предсказанными значениями уровней выявленных белков мембраны эритроцитов у здоровых людей и пациентов с ЯК. Из полученных моделей видно, что при отклонении тех или иных параметров от среднего их значения, уровень содержания исследуемых белковых факторов будет также изменяться в сторону увеличения, либо уменьшения значения от средней величины.

Так, в группе здоровых людей обнаружена сопряжённая связь  $\alpha$ - и  $\beta$ -спектринов с отклонением от среднего значения актина, анкирина и полосы 4.1 (рис. 1). Известно, что половину всех мембранных белков красных клеток

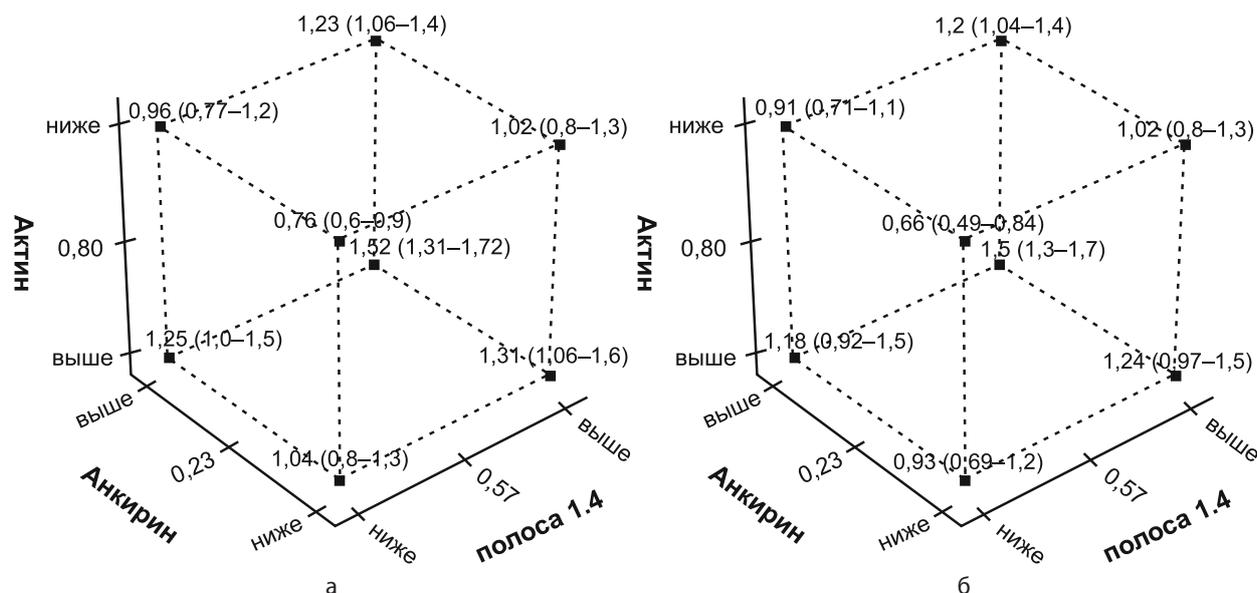
крови составляют спектрины, белок полосы 4.1, анкирин и актин. Одни из наиболее важных структурных белков цитоплазматической мембраны являются спектрины, отвечающие за формирование ячеек примембранного цитоскелета, с которыми связаны филаменты актина. Основной функцией спектринов является поддержание формы клеток и обеспечение их устойчивости к деформации. Кроме того, спектрины принимают участие в латеральной подвижности интегральных белков мембраны эритроцитов [12]. Не менее важной является группа якорных белков цитоскелета красных клеток крови, которую составляют анкирин и белок полосы 4.1. Эти белки обеспечивают прикрепление белковых структур цитоскелета к интегральным белкам, тем самым регулируя форму, стабильность и деформируемость эритроцита. Таким образом, все структурные белки мембраны взаимосвязаны между собой и изменение содержания одних белков будет сказываться на уровне других белковых компонентов мембраны.

По нашим данным, при одновременном снижении всех выявленных предикторов ниже среднего уровня, средняя величина как  $\alpha$ -, так и  $\beta$ -спектринов будет минимальной. При увеличении содержания всех предикторов выше среднего уровня показатели  $\alpha$ - и  $\beta$ -спектринов будут иметь максимальное значение (рис. 1).

Для полосы 4.1 в группе здоровых людей была выявлена сопряжённая связь с АТБ и транспортёром глюкозы (рис. 2). Белок полосы 4.1 в мембране эритроцитов обеспечивает стабильность взаимодействия спектринов с актиновыми филаментами при формировании основных компонентов цитоскелета, через которые осуществляется регуляция деформируемости клетки [12]. Основная роль белка полосы 4.1 заключается в его множественных взаимодействиях с другими белками, в том числе с мембранными транспортёрами эритроцитов и АТБ. Связывание белка полосы 4.1 с АТБ (его цитоплазматической частью) дополнительно укрепляет мембранный каркас красных клеток крови [13]. По данным многофакторного дисперсионного анализа у здоровых людей при одновременном увеличении уровня АТБ и транспортёра глюкозы выше средних значений, уровень белка полосы 4.1 будет максимально высоким. И наоборот, при снижении показателей АТБ и транспортё-

Таблица 3  
 Главные эффекты трёх двухуровневых факторов на белки полосы 4.1 и актина у пациентов с язвенным колитом  
 Table 3  
 Main effects of three two-level factors on band 4.1 proteins and actin in patients with ulcerative colitis

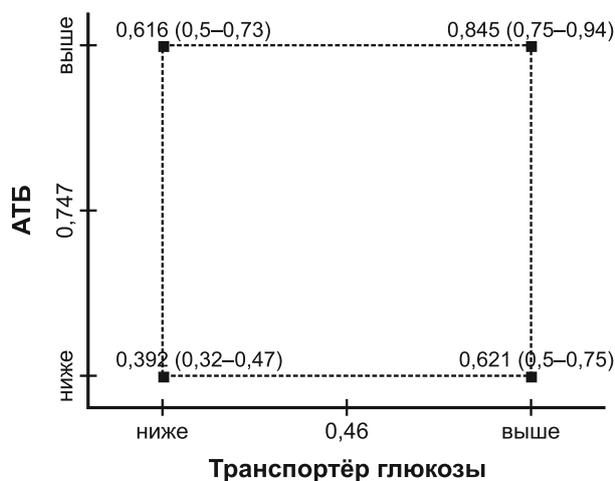
Белки	Факторы	SS	сс	F	p	%
Белок полосы 4.1	АТБ	0,181	1	65,7	0,0000	52,6
	Транспортёр глюкозы	0,015	1	5,46	0,024	4,3
	Г-3-ФДГ	0,019	1	6,94	0,011	5,5
	Ошибка	0,129	47			
	Всего	0,344	50			62,4
Актин	Глут-S-Транс	0,570	1	36,5	0,0000	26,8
	Белок полосы 4.1	0,509	1	32,7	0,0000	24,0
	АТБ	0,327	1	21,0	0,0000	15,4
	Ошибка	0,717	47			
	Всего	2,123	50			66,2



**Рис. 1.** Влияние различного сочетания двухуровневых независимых факторов на средние величины α- (а) и β-спектринов (б) у клинически здоровых лиц. (Здесь и далее в скобках показаны 95% доверительные интервалы. В центре, напротив каждого фактора, дана его средняя величина).

**Fig. 1.** Influence of various combinations of two-level independent factors on the mean values of α- (a) and β-spectrins (б) in clinically healthy individuals. (Hereinafter, 95% confidence intervals are shown in parentheses. In the center, opposite each factor, its average value is given).

ра глюкозы ниже среднего значения, уровень полосы 4.1 будет минимальным (рис. 2).



**Рис. 2.** Влияние различного сочетания двухуровневых независимых факторов на средние величины белка полосы 4.1 у клинически здоровых лиц.

**Fig. 2.** Influence of various combinations of two-level independent factors on the mean values of band 4.1 protein in clinically healthy individuals.

Кроме вышеперечисленных белков у здоровых людей обнаружены взаимодействия якорного белка анкирина с тремя белками: АТБ, транспортёр глюкозы и Г-3-ФДГ, и сократительного белка актина с белком полосы 4.1 и Глут-S-Транс (рис. 3).

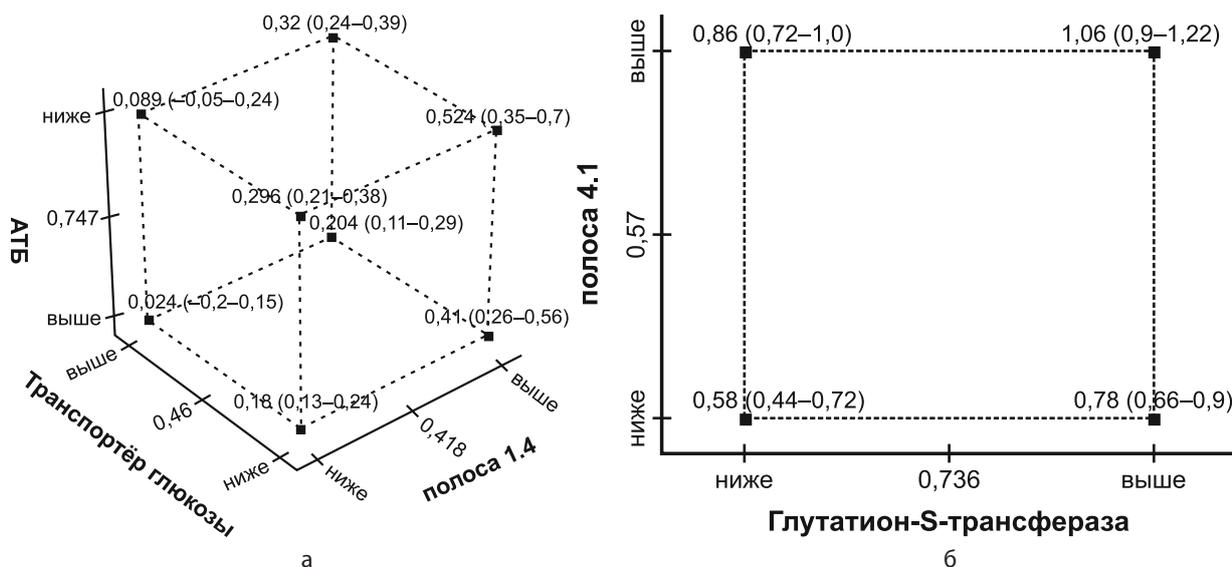
По данным многофакторного дисперсионного анализа при одновременном снижении уровня АТБ и Г-3-ФДГ ниже средних показателей, но увеличении содержания транспортёра глюкозы выше средних значений, уровень анкирина у здоровых лиц будет минимальным. А при содержании АТБ и Г-3-ФДГ выше, а транспортёра глюко-

зы – ниже средних значений, уровень анкирина будет максимальным (рис. 3а).

В отношении актина в группе здоровых людей дисперсионный анализ выявил следующие закономерности: уровень актина будет максимальным при одновременном увеличении значений полосы 4.1 и Глут-S-Транс выше средних показателей, и минимальным – при показателях этих белков ниже их средних значений (рис. 3б).

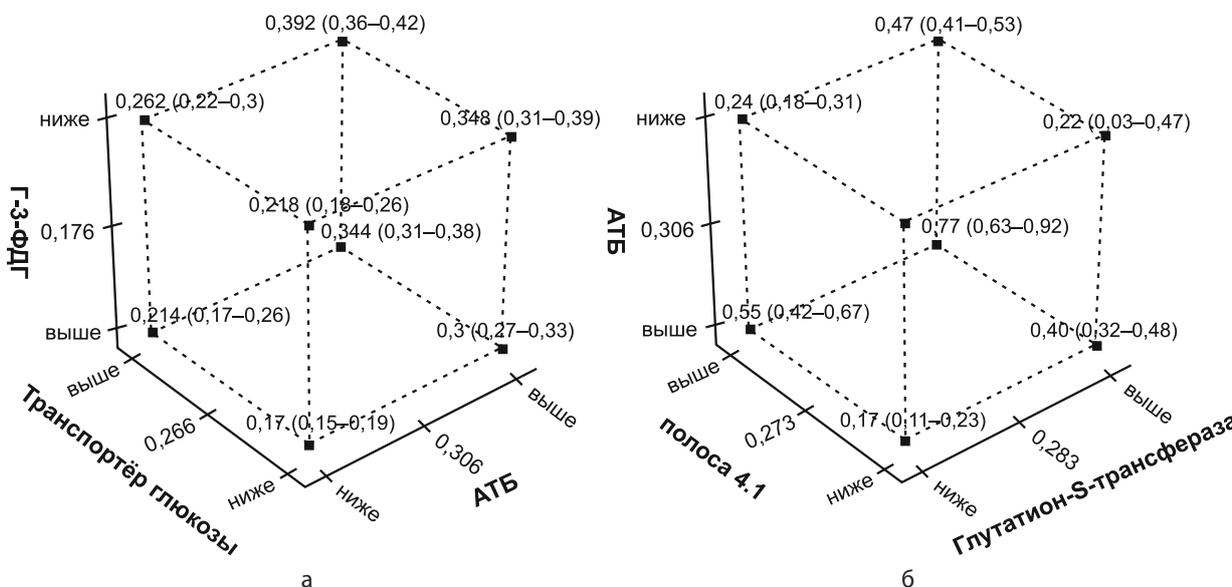
Одним из основных якорных белков мембраны красных клеток крови является анкирин. Данный белок обеспечивает надёжное прикрепление белков цитоскелета (спектринов) к интегральным белкам эритроцита. От степени фосфорилирования анкирина зависит его соединение с другими белками цитоскелета, что, в свою очередь, определяет форму и деформабельность эритроцита [12]. Известно, что активированная форма анкирина (белок полосы 2.2) имеет более высокое сродство к спектрину и АТБ [3]. Однако следует учитывать, что при усиленном взаимодействии анкирина с АТБ происходит отсоединение белка полосы 4.1 от цитоплазматической части белка 3, что приводит к уменьшению стабильности мембраны эритроцита [13]. Всё это поясняет выявленную нами закономерность и сопряжённость уровня анкирина с двумя транспортными белками (АТБ и транспортёр глюкозы) и ферментом гликолиза (Г-3-ФДГ) у здоровых лиц.

В группе больных ЯК сопряжённых связей между исследуемыми белками мембраны эритроцитов оказалось намного меньше, чем в группе здоровых людей. Так, по результатам дискриминантного анализа у пациентов с ЯК обнаружены эффекты взаимодействия белка полосы 4.1 с АТБ, транспортёром глюкозы и Г-3ФДГ (рис. 4а) и актина с тремя белками: Глут-S-Транс, белок полосы 4.1 и АТБ (рис. 4б). При одновременном увеличении уровня Г-3-ФДГ, транспортёра глюкозы и АТБ выше средних показателей у больных ЯК содержание белка полосы 4.1 будет также максимальным. При снижении уровня данных белков ниже средних показателей содержание



**Рис. 3.** Влияние различного сочетания двухуровневых независимых факторов на средние величины анкирина (а) и актина (б) у клинически здоровых лиц.

**Fig. 3.** Influence of various combinations of two-level independent factors on the mean values of ankyrin (a) and actin (б) in clinically healthy individuals.



**Рис. 4.** Влияние различного сочетания двухуровневых независимых факторов на средние величины белка полосы 4.1 (а) и актина (б) у пациентов с язвенным колитом.

**Fig. 4.** Influence of various combinations of two-level independent factors on the mean values of band 4.1 protein (а) and actin (б) in patients with ulcerative colitis.

полосы 4.1 будет минимальным. Для актина выявлена следующая закономерность – при одновременном снижении выявленных факторов ниже среднего уровня содержание актина будет минимальным. При уровнях белка полосы 4.1 и Глут-5-Транс ниже среднего, но уровне АТБ выше средних показателей – уровень актина будет максимальным (рис. 4б).

Утрата связей таких структурных белков, как спектрины и анкирин в группе пациентов с ЯК свидетельствует о дестабилизации мембраны эритроцитов при данном заболевании, уменьшении её деформабельности и эластичности. С другой стороны, во взаимодействии белка полосы 4.1 добавилась связь с Г-3-ФДГ, что косвенно может свидетельствовать об увеличении энергозатрат

для поддержания структурной организации мембраны эритроцитов. А связь актина с другими белками у пациентов с ЯК, нежели у здоровых людей, также подчёркивает структурную и функциональную дестабилизацию мембраны эритроцитов при данной патологии.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, при ЯК в мембране красных клеток крови происходят значительные и необратимые изменения, приводящие к нарушению взаимосвязей между белками, снижению общего содержания исследуемых нами белков, и как показали наши исследования, утрате некоторых эффектов воздействия независимых факторов на уровень тех или иных белковых структур. Учитывая

наличие системной интоксикации у таких больных, подобные нарушения в мембранах эритроцитов возможны как на уровне периферической крови, так и на разных стадиях эритропоэза. Основываясь на полученных нами данных, можно вносить корректировки в лечение ЯК с целью укрепления мембраны эритроцитов.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

#### Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

#### Благодарность

Авторы благодарят заместителя директора по научной работе СИФИБР СО РАН (г. Иркутск) д.б.н., профессора Г.Б. Боровского за помощь в процессе проведения данной работы и ценные замечания при обсуждении её результатов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Горохова В.Г., Кузнецова Э.Э., Пак В.Е., Григорьев Е.Г. Повреждение клеточных мембран у пациентов с язвенным колитом. *Колопроктология*. 2010; (2): 30-35.
2. Коротаева Н.С., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Федоров С.В., Чашкова Е.Ю. Состояние клеточных мембран у больных неспецифическим язвенным колитом. *Acta biomedica scientifica*. 2007; 1(53): 178-179.
3. Stillwell W. *An introduction to biological membranes. Composition, structure and function*. 2nd ed. UK London: Elsevier Science; 2016.
4. Конопля А.И., Шульгинова А.А. Хроническая ишемия головного мозга: состояние структурно-функциональных свойств эритроцитов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016; 1(60): 17-22.
5. Литвинова Е.С., Сорокин А.В., Долгарева С.А., Бушмина О.Н., Харченко А.В., Конопля Н.А. Белки и липиды мембраны эритроцитов при острой и хронической алкогольной интоксикации. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; (2): 115-122.
6. Аникиенко (Бабушкина) И.В., Пивоваров Ю.И., Сергеева А.С., Боровский Г.Б. Изменение характера связи между компонентами белкового спектра мембраны эритроцитов у больных гипертонической болезнью. *Биологические мембраны*. 2019; 36(2): 137-146.
7. Сергеева А.С., Янькова Т.С., Сай О.В. Сравнительный анализ содержания белковых компонентов цитоплазматической мембраны эритроцитов у здоровых лиц и пациентов с язвенным колитом. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2019; (10): 115-120. doi: 10.17513/mjprf.12877
8. Dodge J.T., Mitchell C., Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys*. 1963; 100(1): 118-130. doi: 10.1016/0003-9861(63)90042-0
9. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976; (72): 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259): 680-685. doi: 10.1038/227680a0
11. Пивоваров Ю.И., Сергеева А.С., Курильская Т.Е. Способ математической обработки набора белковых полос, полученных с помощью электрофореза. *Acta biomedica scientifica* 2014; 3(97): 101-104.
12. Бабушкина И.В., Пивоваров Ю.И., Курильская Т.Е., Сергеева А.С., Ильина О.П., Боровский Г.Б. Белковый спектр мембраны эритроцитов и его изменения при патологии. *Биологические мембраны*. 2015; 32(3): 168-174.
13. Муравьев А.В., Комлев В.Л., Михайлов П.В., Ахапкина А.А., Муравьева А.А. Деформация эритроцитов: роль в микроциркуляции. *Ярославский пед. вестник*. 2013; (2): 93-102.

#### REFERENCES

1. Chashkova EYu, Korotaeva NS, Gorokhova VG, Kuznetsova EE, Pak VE, Grigorev EG. Cell membrane damage in patients with ulcerative colitis. *Koloproktologiya*. 2010; (2): 30-35. (In Russ.)
2. Korotaeva NS, Kuznetsova EE, Gorokhova VG, Fedorov SV, Chashkova EYu. The state of cell membranes in patients with non-specific ulcerative colitis. *Acta biomedica scientifica*. 2007; 1(53): 178-179. (In Russ.)
3. Stillwell W. *An introduction to biological membranes. Composition, structure and function*. 2nd ed. UK London: Elsevier Science; 2016.
4. Konoplya AI, Shulginova AA. Chronic ischemia of the brain: state of structural and functional properties of red blood cells. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2016; 1(60): 17-22. (In Russ.)
5. Litvinova ES, Sorokin AV, Dolgareva SA, Bushmina ON, Harchenko AV, Konoplya NA. Proteins and lipids of the erythrocyte membrane in acute and chronic alcohol intoxication. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; (2): 115-122. (In Russ.)
6. Anikienko (Babushkina) IV, Pivovarov Yul, Sergeeva AS, Borovskiy GB. Changes in the nature of the relationship between the components of the protein spectrum of the erythrocyte membrane in patients with hypertension. *Biologicheskie membrany*. 2019; 36(2): 137-146. (In Russ.)
7. Sergeeva AS, Yankova TS, Saj OV. Comparative analysis of the content of protein components of the cytoplasmic membrane of red blood cells in healthy individuals and patients with ulcerative colitis. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovaniy*. 2019; (10): 115-120. doi: 10.17513/mjprf.12877 (In Russ.)
8. Dodge JT, Mitchell C, Hanahan DJ. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys*. 1963; 100(1): 118-130. doi: 10.1016/0003-9861(63)90042-0
9. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976; (72): 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
10. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259): 680-685. doi: 10.1038/227680a0
11. Pivovarov Yul, Sergeeva AS, Kuril'skaya TE. Method for mathematical processing of a set of protein bands obtained by electrophoresis. *Acta biomedica scientifica*. 2014; (3): 101-104. (In Russ.)
12. Babushkina IV, Pivovarov Yul, Kuril'skaya TE, Sergeeva AS, Ilyina OP, Borovskiy GB. Protein spectrum of the erythrocyte membrane and its changes in pathology. *Biologicheskie membrany*. 2015; 32(3): 168-174. (In Russ.)
13. Muravyev AV, Komlev VL, Mihajlov PV, Akhapkina AA, Muravyeva AA. Red blood cell deformity: role in microcirculation. *Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik*. 2013; (2): 93-102. (In Russ.)

#### Сведения об авторах

**Сергеева Анна Сергеевна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sergeeva1111@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-4096-933X>

**Пивоваров Юрий Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», <http://orcid.org/0000-0002-6094-3583>

**Дмитриева Людмила Аркадьевна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: [viclud2009@mail.ru](mailto:viclud2009@mail.ru), <http://orcid.org/0000-0001-6725-3377>

**Сай Олеся Владимировна** – младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: [leechka1986@mail.ru](mailto:leechka1986@mail.ru), <http://orcid.org/0000-0002-5069-7497>

#### Information about the authors

**Anna S. Sergeeva** – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: [sergeeva1111@yandex.ru](mailto:sergeeva1111@yandex.ru), <http://orcid.org/0000-0002-4096-933X>

**Yury I. Pivovarov** – Dr. Sc. (Med.), Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, <http://orcid.org/0000-0002-6094-3583>

**Lyudmila A. Dmitrieva** – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: [viclud2009@mail.ru](mailto:viclud2009@mail.ru), <http://orcid.org/0000-0001-6725-3377>

**Olesya V. Sai** – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: [leechka1986@mail.ru](mailto:leechka1986@mail.ru), <http://orcid.org/0000-0002-5069-7497>

#### Вклад авторов

Сергеева А.С. – получение данных для анализа и анализ полученных данных (выделение мембраны эритроцитов, выделение белка, определение концентрации общего белка, электрофорез белков), написание текста статьи

Пивоваров Ю.И. – разработка дизайна исследования, статистическая обработка полученных данных, редактирование статьи

Дмитриева Л.А. – получение материала для исследования и анализ полученных данных, участие в написание текста статьи

Сай О.В. – получение данных для анализа и анализ полученных данных (выделение мембраны эритроцитов, выделение белка, определение концентрации общего белка, электрофорез белков), участие в написании текста статьи

Статья получена: 10.08.2020. Статья принята: 16.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.

Received: 10.08.2020. Accepted: 16.09.2020. Published: 26.10.2020.