

УДК 612.118

**ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОСМОТИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
ЭРИТРОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ
ЭРИТРОЦИТОВ В ДИСТИЛЛИРОВАННОЙ ВОДЕ**

© 2011 г.

*А.В. Крысова*¹, *А.А. Куншин*², *В.И. Циркин*²¹ Вятский государственный гуманитарный университет, Киров² Казанский государственный медицинский университет

tsirkin@list.ru

Поступила в редакцию 28.04.2011

У 136 небеременных женщин и 10 мужчин исследовали осмотическую резистентность эритроцитов. У женщин она зависит от фазы менструального цикла, но не зависит от его длительности. У мужчин она выше, чем у женщин. Рост осмотической резистентности эритроцитов у мужчин происходит под влиянием андрогенов, у женщин – при повышении в крови уровня эстрогенов и прогестерона.

Ключевые слова: осмотическая резистентность эритроцитов, аквапорины, мужчины, женщины, менструальный цикл.

Введение

Общепризнано, что осмотическая резистентность эритроцитов (ОРЭ) отражает функциональное состояние клеточных мембран [1]. В настоящее время ОРЭ принято определять по степени гипотонической среды, выраженной в процентном содержании NaCl, при которой происходит частичный или полный гемолиз эритроцитов [1, 2]. Наиболее вероятно, что этот метод преимущественно отражает способность эритроцитов к деформируемости: чем она выше, тем выше ОРЭ, т.е. тем требуется больший объем воды, входящей в эритроцит, для его разрушения. Этим методом показано, что ОРЭ снижается при гемолитической анемии, сердечной недостаточности, туберкулезе, циррозе печени, при полицитемии, лимфогрануломатозе, лейкозах и возрастает при механической желтухе, атеросклерозе, талассемии, наследственном сфероцитозе, стоматоцитозе и других формах гемоглобинопатий [3]. Однако причины этих изменений до настоящего времени недостаточно ясны, особенно если учесть современные данные о наличии в клетках организма аквапоринов, с участием которых осуществляется транспорт воды через клеточные мембраны [4, 5]. Известно, что эритроциты содержат аквапорины, в том числе такие их разновидности как AQP0, AQP1 и AQP3 [6]. Отсутствие в клетках аквапоринов делает их осмотически устойчивыми к пребыванию в пресной или дистиллированной воде, а повышение содержания аквапоринов, в том числе за счет их экспрессии или

транслокации из цитоплазмы в мембрану, снижает их осмотическую устойчивость [7]. С этих позиций изучение ОРЭ приобретает иное звучание – оно дает возможность, помимо определения деформируемости эритроцитов, косвенно оценивать содержание в них аквапоринов и влияние различных биологически активных веществ на экспрессию и транслокацию аквапоринов. Исходя из этого положения, нами был предложен принципиально новый метод оценки ОРЭ, основанный на определении динамики изменения числа негемолизированных эритроцитов, помещенных в дистиллированную воду [8]. В данной работе была поставлена цель изучить, используя предложенный нами метод, ОРЭ у молодых женщин (с учетом фазы менструального цикла и его длительности) и мужчин. Такая постановка цели исследования связана с тем, что в литературе эти сведения отсутствуют. В то же время известно [1], что у женщин в сравнении с мужчинами меньше число эритроцитов ($3.5\text{--}5.0$ против $(4.0\text{--}5.6)\times 10^{12}$ на 1 л), меньше гематокритное число (33–44% против 38–49%), ниже уровень гемоглобина (110–152 против 130–172 г/л) и ниже средняя концентрация гемоглобина в эритроците (32.6–35.6 против 32.8–36.2 г/дл), хотя женщины не отличаются от мужчин по среднему содержанию гемоглобина в одном эритроците (у женщин 27–33 пг, у мужчин – 27.5–33.5 пг) и по объему эритроцита (у женщин – 82–96 фл, у мужчин – 81–93 фл). Данных об особенностях состояния эритроцитов у женщин с антепонирующим, нормопонирующим и постпонирующим

щим менструальным циклом (МЦ) в литературе нами не найдено. С другой стороны, имеются сведения, косвенно свидетельствующие о способности половых гормонов влиять на содержание аквапоринов в эритроцитах. В частности, сообщается о том, что добавление прогестерона к гемоконсервирующему раствору повышает ОРЭ эритроцитов доноров [9], а также о том, что самки-голуби имеют более высокую ОРЭ, чем самцы, хотя у павлинов подобные различия отсутствуют [10]. Имеются прямые указания на изменение числа аквапоринов в клетках яичника женщин на протяжении менструального цикла – снижение числа AQP4 в предовуляторную фазу, рост числа AQP2 и AQP3 в овуляторную фазу и рост числа AQP1 в постовуляторную фазу [11]. Показано, что под влиянием прогестерона и эстрогенов у крысы повышается содержание AQP5 в апикальной мембране эпителия почечных канальцев [12], а под влиянием эстрогенов возрастает проницаемость для воды эпителиальных клеток, что приводит к накоплению воды в полости матки [13]. В методическом отношении важны также данные о способности ряда веществ, в том числе солей ртути, блокировать функцию аквапоринов [4, 14]. Таким образом, поставленная в нашей работе цель вполне обоснована и в определенной степени направлена на установление взаимосвязи между осмотической резистентностью эритроцитов (зависимой от деформируемости и содержания аквапоринов) и уровнем половых гормонов в крови.

Материал и методы

Была исследована осмотическая резистентность эритроцитов у 136 небеременных женщин в возрасте от 18 до 26 лет. Из них 52 находились в фолликулярной фазе цикла (1–14 дни цикла), а 67 – в лютеиновой фазе (15–28 дни). 17 женщин находились в середине цикла («условный период овуляции», или перiovуляторный период). Антепонирующий цикл (21–24 дня) имели 9 девушек, т.е. 6.6% от всех исследованных, нормопонирующий (25–29 дней) – 85 девушек, т.е. 62.5%, а постпонирующий (30–35 дней) – 42 девушки, т.е. 30.9%. Также была исследована ОРЭ у 10 молодых мужчин в возрасте от 18 до 29 лет. Для сравнения с ними из групп женщин были сформированы отдельные выборки, равные группе мужчин (табл. 1).

ОРЭ определяли по предложенному нами методу. Он основан на подсчете числа негемолизированных эритроцитов, помещенных в дистиллированную воду (ДВ) на 30, 45, 60, 90 и

120 с. Капиллярную кровь (в объеме 0.02 мл) получали с личного информированного согласия исследуемых общепринятым методом. Эту порцию крови разводили в 10 раз в 0.4 мл 0.9% раствора NaCl, содержащего гепарин (1 МЕ/мл). Затем по 0.02 мл полученной суспензии эритроцитов помещали в 6 пробирок. 1-я содержала 0.4 мл 3% раствора NaCl (конечное разведение – 200) и служила для определения исходного числа эритроцитов в крови (абсолютный контроль (АК)). Пять остальных пробирок, содержащих по 0.2 мл ДВ с 2.5 мМ CaCl₂ (ионы Ca²⁺ добавлялись для последующего изучения влияния биологически активных веществ на ОРЭ), предназначались для определения числа эритроцитов, оставшихся негемолизированными после их внесения в ДВ соответственно на 30, 45, 60, 90 и 120 с. Для этого, ровно через указанное время, соответственно, в каждую из этих пяти пробирок, для прекращения гемолиза и окончательного разведения крови в 200 раз вносили по 0.2 мл 6% раствора NaCl. Подсчет числа негемолизированных эритроцитов проводили в счетной камере Алферова – Бюркера с использованием микроскопа типа Биолам ЛОМО (ИМ13) и выражали в % к АК. На основании этих значений строили кривую, отражающую скорость гемолиза. По ней определяли длительность времени экспозиции в воде, при которой число эритроцитов уменьшалось на 50% от исходного уровня, т.е. показатель T_{50} . Для доказательства роли аквапоринов в ОРЭ нами была проведена дополнительная серия опытов ($n = 7$), в которых эритроциты женщин, перед погружением в воду, помещались на 5 минут в 0.9% NaCl, содержащий 0.05 мМ HgCl₂, который, как известно [4, 14], нарушает функцию аквапоринов и повышает устойчивость клеток к гипотонической среде. Затем по описанной выше методике оценивали осмотическую резистентность этих эритроцитов. Результаты исследования подвергнуты статистической обработке с помощью программы *BioStat 2009 Professional 5.8.4*: рассчитаны среднее арифметическое (M), ошибка среднего (m) и определена нормальность распределения по критериям Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Различия показателей оценивали по критерию Стьюдента и по критерию Манна – Уитни, считали их достоверными при $p < 0.05$ [15].

Результаты и их обсуждение

Установлено, что исходно число эритроцитов в 1 л крови у мужчин составило $(3.9 \pm 0.21) \times 10^{12}$ в 1 л, что соответствует нижней границе нормы [1]. У женщин число эритроцитов в 1 л

Таблица 1

Число негемолизированных в дистиллированной воде эритроцитов (в % к контролю) и значение T_{50} ($M \pm m$) у мужчин, а также у женщин на разных фазах менструального цикла

Группа исследуемых	N	Число эритроцитов в 1 л ($\times 10^{12}$)	Время экспозиции в дистиллированной воде, с					T_{50} , с
			30	45	60	90	120	
1. Мужчины	10	3.90±0.21	82.6±3.6	74.3±4.2	61.4±3.6	50.3±3.6	33.1±4.4	87.7±8.3
2. Все женщины	136	4.05±0.05	77.5±1.2	62.9±1.4	48.5±1.3	28.4±1.5	16.5±1.3	61.9±1.9
3. Фолликулярная фаза	52	4.15±0.08	74.3±2.0	61.2±2.2	45.9±2.0	27.0±2.3	15.7±1.9	58.7±2.9
3.1. 1-я выборка	10	4.29±0.21	70.6±4.1	55.9±4.3	37.2±3.8	14.9±3.6	6.5±2.4	46.8±3.7
3.2. 2-я выборка	10	4.06±0.13	73.9±3.6	61.2±4.5	42.9±4.7	17.9±2.4	6.4±1.3	53.0±3.2
3.3. 3-я выборка	10	4.22±0.19	66.9±4.5	49.9±4.0	40.4±2.2	18.4±2.2	12.2±2.4	46.2±2.9
4. Лютеиновая фаза	67	3.99±0.06	78.2±1.8	62.3±1.9	49.9±1.9	29.9±2.3	17.8±2.2	63.6±3.0
4.1. 1-я выборка	10	4.23±0.17	65.6±7.4	55.4±7.8	41.6±6.7	12.2±3.2	3.0±1.7	48.3±5.3
4.2. 2-я выборка	10	4.11±0.17	76.5±4.4	60.1±3.8	44.4±4.7	22.5±3.3	10.0±2.2	52.1±4.4
4.3. 3-я выборка	10	3.89±0.19	83.9±3.3	56.7±2.8	47.2±2.9	31.2±2.8	16.0±2.1	55.0±3.4
5. Перiovуляторный период	17	3.99±0.14	84.9±2.3	70.2±3.4	51.2±3.2	26.9±3.9	13.9±2.9	64.5±4.1
$P_{3-4 St}$		>0.1	>0.1	>0.1	>0.1	>0.1	>0.1	>0.1
P_{3-4}		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{3-5 St}$		>0.1	<0.01	<0.05	>0.1	>0.1	>0.1	>0.1
P_{3-5}		>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{4-5 St}$		>0.1	<0.05	<0.05	>0.1	>0.1	>0.1	>0.1
P_{4-5}		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
P_{1-2}		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
$P_{1-4.1}$		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
$P_{1-4.2}$		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
$P_{1-4.3}$		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
$P_{1-3.1}$		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
$P_{1-3.2}$		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
$P_{1-3.3}$		>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Примечание: $P_{1-3.1}$ указывает на степень достоверности различий по критерию Манна – Уитни и по критерию Стьюдента (St) между группой 1 (мужчинами) и 1-й выборки группы 3 (женщины, фолликулярная фаза цикла); аналогичны аббревиатуры для других групп сравнения.

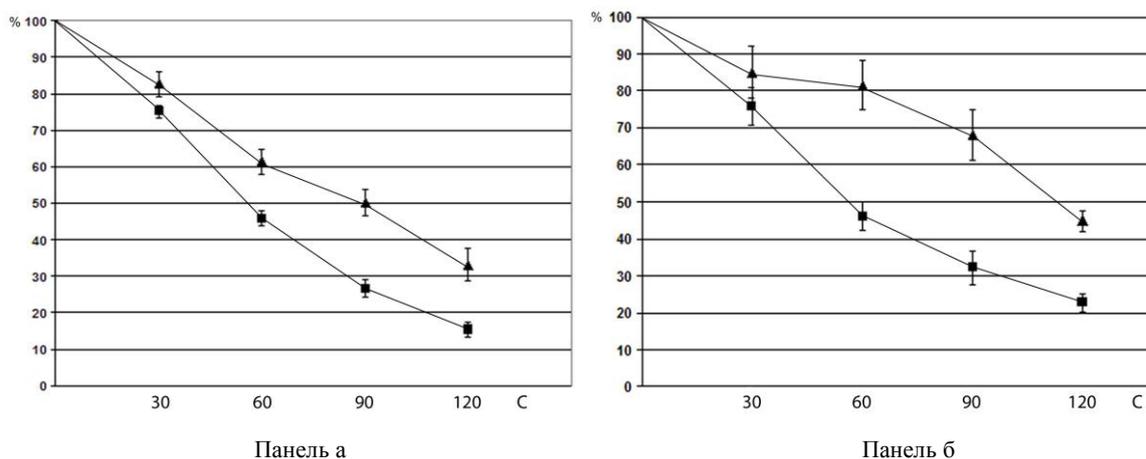


Рис. Процент негемолизированных эритроцитов при различной длительности их экспозиции в дистиллированной воде. По оси абсцисс – время экспозиции, с; по оси ординат – число негемолизированных эритроцитов в процентах от абсолютного контроля

Панель а: ▲ – эритроциты мужчин, ■ – эритроциты небеременных женщин, находящихся в фолликулярной фазе цикла.

Панель б: ■ – интактные эритроциты женщин (без учета фазы цикла), ▲ – эти же эритроциты, после предварительной 5-минутной экспозиции в 0.05 mM HgCl₂.

крови составило $4.05 \times 10^{12}/\text{л}$, что также соответствует нормативным значениям [1]. Число эритроцитов у женщин не зависело от фазы менструального цикла (в фолликулярную фазу – $4.15 \times 10^{12}/\text{л}$, в перiovуляторный период и в лютеиновую фазу – $3.99 \times 10^{12}/\text{л}$). Оно также не зависело и от длительности МЦ (у женщин с антепонирующим МЦ оно составило $4.21 \times 10^{12}/\text{л}$, с нормопонирующим – $4.07 \times 10^{12}/\text{л}$, а с постпонирующим – $3.98 \times 10^{12}/\text{л}$; все различия носят недостоверный характер, $p > 0.1$).

При исследовании ОРЭ было установлено, что во всех случаях при погружении эритроцитов в ДВ, судя по числу сохранившихся в поле зрения эритроцитов, происходило относительно быстрое их разрушение. Из табл. 1 и рисунка (панель а) видно, что у мужчин, например, через 30 с экспозиции число неразрушенных, хорошо видимых под микроскопом эритроцитов составило 82.6% от исходного уровня, через 45 с – 74.3%, через 60 с – 61.4%, через 90 с – 50.3%, а через 120 с – 33.1%. При этом длительность времени экспозиции в воде, при которой число эритроцитов уменьшалось на 50% от исходного уровня (т.е. показатель T_{50}), для мужчин составил 87.7 с. Нами показано, что полный осмотический гемолиз происходит при экспозиции в воде в пределах 5–10 минут. Из приведенной на рисунке кривой гемолиза видно, что условно эта кривая представлена двумя составляющими. Их наличие указывает на то, что первые 60 с процесс гемолиза идет с одной скоростью (примерно 0.67% в с), а потом – с более медленной (примерно 0.50% в 1 с). В целом кривая гемолиза указывает на дифференцировку эритроцитов по их осмотической резистентности: часть эритроцитов, судя по числу их, разрушенных в первые 30 с, обладает очень низкой резистентностью, а часть, судя по негемолизированным эритроцитам, даже через 90 и 120 с обладает высокой резистентностью. Это сопоставимо с понятиями о минимальной ОРЭ и максимальной ОРЭ соответственно, которые используются при определении ОРЭ классическим способом [1, 2].

Подобная динамика гемолиза эритроцитов была характерна и для женщин. При этом кривые, отражающие число негемолизированных эритроцитов, в определенной степени, зависели от фазы менструального цикла. Действительно, нами установлено (табл. 1), что женщины не различались между собой по проценту негемолизированных эритроцитов при 60-, 90- и 120-секундных экспозициях, а также по величине T_{50} , но достоверно отличались по проценту негемолизированных эритроцитов при 30-

45-секундных экспозициях. В частности, в перiovуляторный период эти значения были достоверно ($p < 0.05$) выше, чем в фолликулярную и в лютеиновую фазы цикла (для 30-секундной экспозиции они составили 84.9% против 74.3 и 78.2% соответственно, для 45-секундной экспозиции – 70.2% против 61.2 и 62.3%). Эти данные означают, что в перiovуляторный период достоверно снижается доля эритроцитов, обладающих минимальной резистентностью, и, в определенной степени, судя по числу негемолизированных эритроцитов при 90- и 120-секундных экспозициях, снижается и доля эритроцитов, обладающих максимальной резистентностью. Иначе говоря, уменьшается диапазон дифференцировки эритроцитов по их осмотической резистентности. В то же время нам не удалось выявить различия между женщинами, находящимися в фолликулярной или лютеиновой фазе МЦ, по уровню ОРЭ.

При учете длительности МЦ нами установлено (табл. 2), что женщины с антепонирующим, нормопонирующим и постпонирующим МЦ не различались между собой по проценту негемолизированных эритроцитов, а также по величине T_{50} .

В то же время все женщины, независимо от фазы цикла и его продолжительности, отличались от мужчин более низкой ОРЭ (табл. 1 и 2) – эти различия касались и показателя T_{50} (58.7–64.5 с против 87.7 с у мужчин, $p < 0.05$), и данных, характеризующих число негемолизированных эритроцитов при 45-, 60-, 90- и 120-секундных экспозициях. Например, для 60-секундной экспозиции эти значения составили 45.8–51.2% против 61.4% ($p < 0.05$). Эти различия подтверждаются и при сравнении мужчин с отдельными выборками женщин при равном числе исследуемых.

Результаты исследования влияния 0.05 мМ HgCl_2 на ОРЭ 7 небеременных женщин (без учета фазы менструального цикла) показали, что даже 5-минутная экспозиция эритроцитов женщин в растворе, содержащем 0.05 мМ HgCl_2 , достоверно увеличивает устойчивость эритроцитов при их 30-, 45-, 60-, 90 и 120-секундных экспозициях и повышает их T_{50} , т.е. существенно повышает их ОРЭ (рисунок, панель б).

Итак, предложенный нами метод оценки ОРЭ показал возможность его реализации в любой лаборатории. Этот метод подтвердил данные литературы [14] о том, что инактивация аквапоринов ионами ртути существенно повышает ОРЭ. Это означает, что предложенный нами метод отражает не только способность

Таблица 2

Число негемолизированных в дистиллированной воде эритроцитов (в % к контролю) и значение T_{50} ($M \pm m$) у мужчин, а также у женщин с различной длительностью менструального цикла (МЦ)

Вид менструального цикла	n	Исходное число эритроцитов в 1 л ($\times 10^{12}$)	Время экспозиции в дистиллированной воде, с					T_{50} , с
			30	45	60	90	120	
1. Мужчины	10	3.90±0.21	82.6±3.6	74.3±4.2	61.4±3.6	50.3±3.6	33.1±4.4	87.7±8.3
2. Антепонирующий МЦ	9	4.21±0.19	76.1±3.3	66.2±4.0	42.9±6.1	18.6±3.5	8.7±2.7	57.1±4.1
3. Нормопонирующий МЦ	85	4.07±0.06	76.8±1.6	61.8±1.9	47.9±1.7	30.1±1.9	18.0±1.7	61.4±2.6
3.1. 1-я выборка	10	3.98±0.11	76.9±5.3	63.8±6.3	47.5±3.4	25.6±4.2	11.6±3.1	56.1±6.3
3.2. 2-я выборка	10	3.81±0.11	82.8±3.5	70.6±3.6	59.3±4.7	40.7±4.4	30.5±4.7	78.1±7.4
3.3. 3-я выборка	10	3.92±0.11	79.0±3.6	69.2±4.9	59.8±4.9	41.7±5.9	29.2±5.3	76.3±8.5
4. Постпонирующий МЦ	42	3.98±0.09	79.2±2.1	64.2±1.9	51.0±1.9	26.9±2.6	14.9±2.5	63.8±3.4
4.1. 1-я выборка	10	4.06±0.08	76.7±5.5	61.5±3.6	47.5±4.0	18.4±4.0	6.7±2.1	57.6±3.6
4.2. 2-я выборка	10	4.00±0.17	77.5±5.8	62.4±4.6	52.6±4.9	26.8±4.3	14.8±4.9	59.4±8.3
4.3. 3-я выборка	10	4.03±0.17	76.1±2.2	65.2±3.1	52.0±2.9	21.7±5.9	13.0±4.4	61.5±4.5
P_{3-4}		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{3-4 St}$		>0.01	>0.01	>0.01	>0.01	>0.1	>0.1	>0.1
P_{2-3}		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{2-3 St}$		>0.1	>0.1	>0.1	>0.1	<0.1	<0.01	>0.1
P_{2-4}		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{2-4 St}$		>0.1	>0.1	>0.1	>0.1	>0.1	>0.05	>0.1
P_{1-2}		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
P_{1-3}		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
P_{1-4}		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
$P_{2-3.1}$		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{2-3.2}$		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.06
$P_{2-3.3}$		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05
$P_{2-4.1}$		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{2-4.2}$		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.06	>0.05	>0.05
$P_{2-4.3}$		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{3.1-4.1}$		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
$P_{3.2-4.2}$		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05
$P_{3.3-4.3}$		>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05

эритроцитов к деформируемости под влиянием входящей в эритроцит воды, но и косвенно отражает число аквапоринов в мембране эритроцитов, а следовательно, и скорость вхождения воды в эритроцит. Характер динамики гемолиза эритроцитов в дистиллированной воде подтверждает гипотезу о наличии в мембране переносчика воды, т.е. аквапоринов. Предложенный нами метод также позволяет выделять фракции эритроцитов, обладающих различной осмотической резистентностью, в том числе минимальной и максимальной резистентностью.

С помощью предложенного нами метода впервые показано, что ОРЭ у мужчин достоверно выше, чем у небеременных женщин. Эти различия, скорее всего, обусловлены тем, что андрогены повышают деформируемость мембран эритроцитов и одновременно снижают

число аквапоринов в эритроцитах и тем самым уменьшают проницаемость мембраны эритроцитов для воды.

Нами впервые показано, что в лютеиновую фазу цикла, несмотря на существенное повышение содержания в крови прогестерона и снижение уровня эстрогенов [16], ОРЭ остается такой же, как в фолликулярную фазу. В то же время нами установлено, что в перивуляторный период («условный период овуляции»), при котором уровень эстрогенов достигает максимальных значений, снижается доля эритроцитов, обладающих минимальной резистентностью (с 25.7% в фолликулярную фазу до 15%), но в лютеиновую фазу она вновь возрастает (до 21.8%). Косвенно эти данные указывают на то, что повышению ОРЭ способствует одновременный рост уровня эстрогенов и прогестерона, так как снижение уровня эстрогенов в лютеино-

вую фазу цикла, несмотря на высокий уровень прогестерона, приводит к уменьшению ОРЭ, что проявляется в увеличении доли эритроцитов с низкой резистентностью. В основе повышения ОРЭ, наблюдаемой в перивуляторный период, по нашему мнению, могут лежать два процесса: рост деформируемости эритроцитов и снижение числа аквапоринов в мембране эритроцитов.

Нами впервые показано, что женщины с нормопонирующим МЦ не отличаются от женщин с антепонирующим и постпонирующим МЦ, хотя в литературе сообщается о том, что женщины с разной длительностью цикла отличаются между собой по уровню гормонов [17].

Очевидно, что эти различия не отражаются на уровне ОРЭ.

Выводы

1. Метод оценки ОРЭ, основанный на подсчете числа гемолизованных эритроцитов, помещенных в дистиллированную воду, доступен для применения в клинической практике.

2. ОРЭ у молодых женщин не зависит от длительности менструального цикла, но, в определенной степени, зависит от фазы менструального цикла: в перивуляторный период у них снижается доля эритроцитов, обладающих минимальной осмотической резистентностью. Во всех случаях ОРЭ у женщин ниже, чем у мужчин.

3. Повышение ОРЭ объясняется снижением аквапоринов и ростом деформируемости эритроцитов, что происходит у мужчин под влиянием андрогенов, а у женщин – при сочетанном повышении уровня в крови эстрогенов и прогестерона.

Список литературы

1. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 800 с.
2. Справочник по лабораторным методам исследования / Под ред. Л.А. Даниловой. СПб.: Питер, 2003. 736 с.
3. Вебер В.Р., Швецова Т.П. Лабораторные методы исследования. Диагностическое значение /

Учебное пособие. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. 496 с.

4. Титовец Э.П. Аквапорины человека и животных: фундаментальные и клинические аспекты. Минск: Белорус. наука, 2007. 239 с.

5. Crane J., Verkman A. Long-range nonanomalous diffusion of quantum dot-labeled aquaporin-1 water channels in the cell plasma membrane // *Biophys. J.* 2008. V. 94. № 2. P. 702–713.

6. Cho M., Knowles D., Smith B., Moulds J. et al. Membrane dynamics of the water transport protein aquaporin-1 in intact human red cells // *Biophys. J.* 1999. V. 76. № 2. P. 1136–1144.

7. Mann S., Ricke E., Yang B., Verkman A., Taylor R. Expression and localization of aquaporin 1 and 3 in human fetal membranes // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2002. V. 187. № 4. P. 902–907.

8. Положительное решение от 9/ХП 2010 г. по заявке № 2009145267//15(064541) от 07.12.2009 на изобретение «Способ определения осмотической резистентности эритроцитов» / Крысова А.А., Циркин В.И. и Куншин А.А. (РФ).

9. DeVenuto F., Wilson S. Distribution of progesterone and its effect on human blood during storage // *Transfusion.* 1976. V. 16. № 2. P. 107–112.

10. Oyewale J. Further studies on osmotic resistance of nucleated erythrocytes: observations with pigeon, peafowl, lizard and toad erythrocytes during changes in temperature and pH // *Zentralbl Veterinarmed. A.* 1994. Bd. 41. № 1. S. 62–71.

11. Thoroddsen A., Dahm-Kähler P., Lind A. et al. The Water Permeability Channels Aquaporins 1-4 Are Differentially Expressed in Granulosa and Theca Cells of the Preovulatory Follicle during Precise Stages of Human Ovulation // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011. V. 96. № 4. P. 1021–1028.

12. Lindsay L., Murphy C. Redistribution of aquaporins 1 and 5 in the rat uterus is dependent on progesterone: a study with light and electron microscopy // *Reproduction.* 2006. V. 131. № 2. P. 369–378.

13. Jablonski E., McConnell N., Hughes F. Jr, Huet-Hudson Y. Estrogen regulation of aquaporins in the mouse uterus: potential roles in uterine water movement // *Biol. Reprod.* 2003. V. 69. № 5. P. 1481–1487.

14. Yukutake Y., Tsuji S., Hirano Y. et al. Mercury chloride decreases the water permeability of aquaporin-4-reconstituted proteoliposomes // *Biol. Cell.* 2008. V. 100. № 6. P. 355–358.

15. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1999. 459 с.

16. Серов В.Н. Гинекологическая эндокринология. М.: МЕДпресс-информ, 2008. 528 с.

17. Кадочникова Н.И. Дис. ... канд. биол. наук. Киров: ВятГГУ, 2003. 158 с.

**SEX-RELATED PECULIARITIES OF THE OSMOTIC RESISTANCE
OF HUMAN ERYTHROCYTES REVEALED BY THE EXPOSURE
OF ERYTHROCYTES TO DISTILLED WATER**

A.V. Krysova, A.A. Kunshin, V.I. Tsirkin

The osmotic resistance of erythrocytes (ORE) of 136 nonpregnant women and 10 men has been studied. The ORE of women depends on the menstrual cycle phase but does not depend on the cycle duration. The ORE of the men was higher than that of the women. An increase of the male ORE is influenced by androgens and that of female ORE is caused by the growth of estrogen and progesterone.

Keywords: osmotic resistance of erythrocytes, aquaporins, men, women, menstrual cycle.