

АПОПТОЗНЫЙ ХАРАКТЕР ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ, ИНДУЦИРОВАННЫЙ МАЛЫМИ ДОЗАМИ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

© 2015 г. В.Н. Крылов, А.В. Дерюгина, С.Н. Плескова, В.А. Калинин

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
603600, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

E-mail: kfg@bio.unn.ru

Поступила в редакцию 17.07.14 г.

После доработки 04.09.14 г.

Установлено, что воздействие малыми дозами ионизирующей радиации (0,04; 0,08; 0,16; 0,25 и 0,33 мГр) на эритроциты крыс приводит к нелинейному изменению процессов перекисного окисления липидов в мембране эритроцитов, их электрофоретической подвижности, осмотической резистентности. В интервале доз ионизирующего облучения от 0,08 до 0,16 мГр, вероятно, запускается программа апоптоза, определяющая временное замедление процесса гемолиза и стабилизацию эритроцитов, что подтверждается морфологическими изменениями эритроцитов.

Ключевые слова: апоптоз, гемолиз, ионизирующая радиация, эритроциты.

Исследование влияния малых доз ионизирующей радиации на структурно-функциональное состояние мембран клеток является актуальным для понимания молекулярных механизмов радиационного повреждения и возникающей устойчивости организма к действию данного фактора [1]. Однако большинство работ в этом направлении выполнено с применением хронического или длительного облучения, когда регистрируются интегральные и отдаленные последствия радиации, что затрудняет выявление переходных механизмов деструктивных и защитных процессов. Более информативные механизмы этих процессов могут быть выявлены при кратковременном облучении малыми дозами ионизирующей радиации. По существующим представлениям, ионизирующая радиация в малых дозах запускает в клетках каскад реакций, приводящих к их выживанию или гибели. Вместе с тем гибель клеток сегодня рассматривается не только как некроз или аутофагия [2], но и как апоптоз – запрограммированная гибель и удаление нежелательной или поврежденной клетки [1–3]. Логично предположить, что этот процесс может происходить и при радиационном поражении клеток. Основ-

ная роль в запуске и реализации программируемой смерти – апоптоза – принадлежит клеточной мембране, механизм разрушения которой в этом процессе остается пока неясным [4,5]. Эритроциты *in vitro* являются удобным объектом для выяснения мембранных механизмов повреждающего действия низкоинтенсивной ионизирующей радиации (НИР), не опосредованных метаболизмом. В эритроцитах также осуществляются два пути гибели – апоптоз и гемолиз, которыми в норме заканчивается их жизненный цикл [6,7]. Однако с учетом того факта, что эритроциты характеризуются отсутствием ядра и митохондрий, они лишены и некоторых характерных особенностей апоптоза ядросодержащих клеток, таких как деполяризация митохондрий и конденсация хроматина ядра. Вместе с тем у эритроцитов четко визуализируются другие признаки апоптоза, такие как уменьшение объема клеток, везикуляция (образование апоптотных телец) и перераспределение липидов мембраны, которое приводит к выходу фосфатидилсерина на поверхность. Для обозначения апоптоза эритроцитов в 2005 г. введен в научный оборот термин «эриптоз» [8]. Основные воздействия, приводящие к реализации механизма эриптоза: окислительный стресс, осмотический шок, энергетическое истощение клеток [9]. Они же могут лежать в основе апоптоз-ассоциированных нарушений, возникающих при ряде заболеваний, а также возникать при

Сокращения: НИР – низкоинтенсивная ионизирующая радиация, ЭФПЭ – электрофоретическая подвижность эритроцитов, МДА – малоновый диальдегид, АСМ – атомно-силовая микроскопия, ПОЛ – перекисное окисление липидов.

воздействию на клетку разных лекарственных веществ и ксенобиотиков [10]. Вместе с тем в литературе отсутствуют данные об аналогичных изменениях эритроцитов при радиационном облучении. Апоптоз эритроцитов обычно рассматривается как механизм, тормозящий гемолиз и приводящий к временной «стабилизации» клеток [11]. Предполагается, что в начальный период апоптоза (преапоптотозные эритроциты) существуют переходные (обратимые) процессы, определяющие защитный механизм, снижающий содержание осмолитов внутри клетки и, тем самым, стабилизирующий ее гомеостаз [12,13]. Исследование механизмов такой защиты будет способствовать развитию методов ее повышения при радиационном поражении организма.

Цель работы – изучить апоптотозный характер изменений эритроцитов крыс в динамике однократного кратковременного (40 мин) облучения малыми дозами низкоинтенсивной радиации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась цельная кровь крыс, стабилизированная антикоагулянтом – 5%-м цитратом натрия. Облучение крови проводили в чашке Петри (диаметр 3 см) при толщине слоя жидкости 2 мм, помещая на расстоянии 1 см от поверхности стандартный источник ионизирующей радиации ^{90}Sr – ^{90}Y с активностью $9 \cdot 10^4$ Бк и расчетной мощностью дозы 0,5 мГр/ч. Кровь анализировали через 5, 10, 20, 30 и 40 мин после начала облучения (соответствующие расчетные дозы при этом составляли 0,04; 0,08; 0,16; 0,25 и 0,33 мГр). На каждом этапе облучения из общего объема отбирали часть крови (0,5 мл) и проводили подсчет количества эритроцитов, вышедшего гемоглобина, электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ), концентрации в них малонового диальдегида (МДА), морфологии клеток. Контролем служили образцы необлученной крови, анализируемые по тем же параметрам. Используемые в опытах эритроциты трижды отмывали 0,85%-м раствором хлористого натрия, центрифугируя 10 мин при 1500 об/мин.

Анализ числа эритроцитов, ресуспензированных в 3% NaCl, оценивали фотометрически при длине волны 650 нм. Оптическое поглощение супернатанта после соответствующего разведения 0,85% NaCl, характеризующего количество вышедшего гемоглобина, определяли спектрофотометрически при длине волны $\lambda = 540$ нм [14]. Измерение ЭФПЭ производили методом микроэлектрофореза [15], регистрируя

время прохождения эритроцитами расстояния 10 мкм в трис-HCl буфере с pH 7,4 при силе тока 10 мА. Интенсивность перекисного окисления липидов определяли по содержанию малонового диальдегида в эритроцитах. Концентрацию МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [11]. Плотность окраски триметинового комплекса регистрировали при 530 нм. Для расчета концентрации МДА использовали коэффициент молярной экстинкции $E = 1,56 \cdot 10^{-5} \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Морфологию эритроцитов исследовали методом атомно-силовой микроскопии (АСМ) [16]. Фиксацию клеток проводили 2%-м глутаровым альдегидом сразу после самопроизвольной адгезии клеток. Исследования поверхности клеток проводили на установке SOLVER BIO™ (NT-MDT, Зеленоград), включающей в себя оптический инвертированный микроскоп, на котором устанавливали АСМ-головку. Исследование топографии эритроцитов производили в полуконтактном режиме кантилеверами DNP (Veeco, США). Для сканирования использовали зонды А и С с жесткостью 0,58 и 0,32 Н/м соответственно, радиусом закругления на вершине – 50 нм, углом при вершине 70°. Анализ изображений проводили с использованием программного обеспечения SPM Lab Analysis Only (Topometrix, США).

После доказательства принадлежности экспериментальных данных к нормальному распределению с использованием критерия Шапиро–Уилка определяли значения средних арифметических и стандартных отклонений. Для сравнения двух подгрупп использовали *t*-критерий Стьюдента [17]. Для статистической обработки полученных результатов использовали табличный редактор Microsoft Excel 2007 и программу Origin 8,0 Server.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 показана динамика изменения оптической плотности супернатанта крови, облученной разными дозами НИР. Как видно, кривая, демонстрирующая выход гемоглобина (опыт), расположена выше контрольного уровня (необлученная кровь) и значительно ниже его в присутствии сапонина (100% гемолиз). При этом при облучении в дозе 0,04 мГр выход гемоглобина усиливается в 1,4 раза относительно контроля, а в интервале доз 0,08–0,16 мГр количество эвакуированного гемоглобина снижается. С увеличением дозы радиации до 0,33 мГр скорость гемолиза вновь увеличивается (в 1,9 раза). Таким образом, реакция эритроцитов на НИР не является монотонной, по

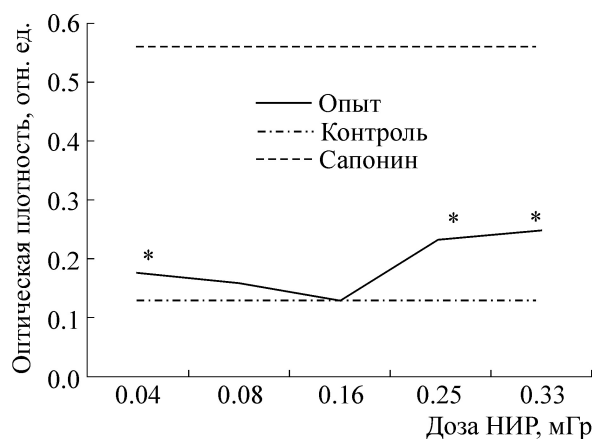


Рис. 1. Изменения оптической плотности надосадочной жидкости после воздействия НИР на эритроциты: * – $p < 0,05$ по отношению к значению до воздействия (контроль).

всей вероятности существует некоторый «коридор воздействия», в котором компенсаторные механизмы клеток реализуются максимально. В данном случае он соответствовал расчетным дозам 0,08–0,16 мГр. В этом диапазоне происходит не только гемолиз клеток (как при более низкой дозе в 0,04 мГр), но и сохранение целостности клеточных мембран. По всей вероятности, именно в этом «коридоре» максимально реализуются все компенсаторно-гомеостатические (в том числе антиоксидантные) процессы. Можно предположить, что при таких воздействиях энергетические, ферментативные и антиоксидантные системы истощаются настолько, что эритроцит запускает механизм запрограммированной гибели клетки. О верности такой гипотезы свидетельствуют нижеприведенные результаты.

В таблице приведены результаты фотометрического анализа количества эритроцитов интактной и облученной крови. Они свидетельствуют о прогрессирующем снижении числа живых клеток с ростом дозы НИР, динамика которой также не является монотонной. Наибольшая скорость гемолиза (процент убыли

эритроцитов) наблюдается после воздействия начальной (на 9,1% относительно контроля) и конечной (на 15,7%) доз облучения.

Из приведенных данных следует, что радиоиндуцируемый гемолиз, в отличие от сапонинового, является менее массивным и, по-видимому, определяется целостными клетками с меньшим числом пор и размером, достаточным для выхода гемоглобина. Вероятно, потеря гемоглобина в этом случае осуществляется через локальные дефектины (разрывы) мембраны, инициатором образования которых является активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при действии НИР. Как известно, ПОЛ изменяет физико-химическое состояние липид-белкового матрикса мембран, что приводит к нарушению барьера проницаемости, в частности, вследствие возникновения неспецифических пор [18]. Это подтвердилось и в наших экспериментах. Определение МДА показало значительные колебания содержания этого продукта перекисного окисления липидов в эритроцитах в зависимости от дозы НИР. Концентрация МДА резко возрастала (на 36%) после облучения дозой 0,04 мГр, затем снижалась почти до контрольного уровня при дозе 0,08 мГр и вновь увеличивалась в интервале доз 0,16–0,33 мГр соответственно на 18,4 и 48% (таблица).

Соответствующая динамика изменений в ответ на НИР была прослежена при анализе электрофоретической подвижности эритроцитов крови крыс. Исследование ЭФПЭ показало, что в облученной крови она понижалась при дозе воздействия 0,04 мГр относительно подвижности эритроцитов необлученной крови (таблица). При последующей регистрации показателя в интервале от 0,08 до 0,25 мГр наблюдалось увеличение ЭФПЭ относительно необлученной крови. При увеличении дозы до 0,33 мГр ЭФПЭ вновь уменьшалась относительно значений интактной группы. Учитывая, что изменение ЭФПЭ отражает перераспределение поверхностного заряда мембраны эритроцитов, можно сделать заключение об активной роли ПОЛ в

Динамика изменения количества эритроцитов ($\times 10^{12}/л$), концентрации в них МДА (нмоль/мл) и ЭФПЭ (мкм-см/В-с) крови крыс при облучении

Показатель	Доза облучения, мГр					
	Контроль	0,04	0,08	0,16	0,25	0,33
Количество эритроцитов	$3,96 \pm 0,25$	$3,60 \pm 0,20$	$3,33 \pm 0,25^*$	$3,24 \pm 0,18^*$	$3,12 \pm 0,11^*$	$2,40 \pm 0,05^*$
МДА	$3,3 \pm 0,5$	$4,5 \pm 0,6^*$	$3,5 \pm 0,5$	$3,9 \pm 0,6$	$4,6 \pm 0,6^*$	$4,9 \pm 0,5^*$
ЭФПЭ	$0,11 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,03$	$0,14 \pm 0,02$	$0,16 \pm 0,02^*$	$0,16 \pm 0,03^*$	$0,08 \pm 0,02^*$

Примечание. * – $p < 0,05$ по отношению к значению до воздействия (контроль).

этом перераспределении. В частности, при интенсификации процессов ПОЛ происходит трансмембранная перестройка липидов и выход фосфатидилсерина на внешнюю поверхность мембраны [19], разрушение участков бислоя, обогащенных двойными связями, нарушение белок-липидных взаимоотношений в мембране и изменение содержания основных сиалогликопротеинов [20], что и определяет изменение электрокинетических свойств эритроцитов. Кроме того, повышение ЭФПЭ может быть также связано с поступлением ионов кальция внутрь эритроцита. Укажем, что, как полагают авторы работы [11], именно повышение внутриклеточной концентрации кальция при альтерациях является пусковым механизмом апоптоза эритроцитов, приводящим к их стабилизации. По мнению авторов, входящий кальций, предохраняя клетки от набухания, и тормозит развитие гемолиза.

Таким образом, в динамике облучения клеток малыми дозами радиации прослеживаются синхронные нелинейные изменения интенсивности гемолиза, ПОЛ и ЭФПЭ, указывающие на взаимосвязь этих процессов в облученных эритроцитах. При этом, если для дозы 0,33 мГр указанные изменения характеризуют тотальную ускоренную гибель клеток, то для доз 0,04–0,16 мГр выявляются переходные процессы, которые могут быть обусловлены включением механизмов апоптоза, тормозящую ее.

Как известно, нелинейные колебания радиоиндуцируемых эффектов являются характерным для действия малых доз на биообъекты – с их усилением на начальных этапах и снижением с ростом дозы, которые, как полагают, связаны с запуском компенсаторных механизмов [21]. Можно предположить, что в условиях наших экспериментов включение репарационных механизмов происходит в интервале 0,08–0,16 мГр, где наблюдаются замедление процесса гемолиза, снижение продукции МДА и, соответственно, повышение ЭФПЭ. Мы полагаем, что указанные механизмы отражают апоптоз эритроцитов (эриптоз). Описанные ниже результаты исследования АСМ-изображений эритроцитов подтверждают апоптотный характер их гемолиза в динамике облучения малыми дозами радиации. Они касаются как размеров клеток, так топографии и рельефа поверхности их мембран.

При анализе морфологии эритроцитов было установлено, что в интервале доз 0,04–0,16 мГр действие радиации вызывало появление трансформированных и эхиноцитарных форм с уменьшением размера клеток (рис. 2). В дальнейшем при увеличении доз облучения (0,25–

0,33 мГр) наблюдалась трансформация эритроцитов в сфероэхиноциты и сфероциты с частичным восстановлением их размера. Известно, что образование сферизованных форм указывает на нарушение осмотического баланса эритроцитов, связанного с выходом гемоглобина и наступлением предгемолитического состояния, заканчивающегося формированием теней. У сфероэхиноцитов, имеющих шероховатую поверхность, отмечается появление многочисленных пузырьков (апоптотных телец), которые «удаляются» с поверхности мембраны, что приводит к значительному уменьшению размеров клеток.

На рис. 2а представлен нормоцит – клетка, не подвергавшаяся воздействию НИР. Результаты, полученные с помощью атомно-силовой микроскопии, показали, что средний диаметр нативных клеток составляет $7,40 \pm 0,09$ мкм, а высота в области тора – $1,23 \pm 0,05$ мкм. При воздействии НИР морфология эритроцитов существенно меняется, о чем свидетельствуют рис. 2а–е. В частности, рис. 2б демонстрирует, что минимальное воздействие НИР в расчетной дозе 0,04 мГр вызывало пойкилоцитоз: наряду с незначительным количеством клеток с морфологией, близкой к нормальной дисковидной форме, преобладали сфероциты и эллиптоциты, а также незначительное количество стоматоцитов. На рис. 2в показано, что воздействие НИР в расчетной дозе 0,08 мГр привело к существенному преобладанию эхиноцитов среди морфологических вариаций эритроцитов. Показано изменение морфологических параметров: диаметра и максимально высокой точки эритроцита (для сопоставления с замерами тора у нормоцита), уменьшение линейных размеров красных клеток крови (диаметр уменьшился до $5,12 \pm 0,44$ мкм, статистически значимо по сравнению с контролем, $p < 0,05$), тогда как для высоты клетки отмечена лишь тенденция к снижению – $1,15 \pm 0,21$ мкм, $p > 0,05$).

Увеличение расчетной дозы радиации до 0,16 мГр приводило к образованию эритроцитами стабильных форм сфероцитов (рис. 2г). Вместе с тем линейные параметры клеток, как и в случае с воздействием более низких доз, оказываются уменьшенными по сравнению с контролем: диаметр уменьшается статистически значимо ($p < 0,05$) – $5,12 \pm 0,55$ мкм, а высота клетки в максимальной точке обнаруживает лишь тенденцию к уменьшению ($p > 0,05$) – $1,17 \pm 0,33$ мкм. На поверхности сфероцитов обнаруживаются апоптозо-подобные тельца. И хотя известно, что основные отличительные признаки эриптоза (апоптоза эритроцитов) су-

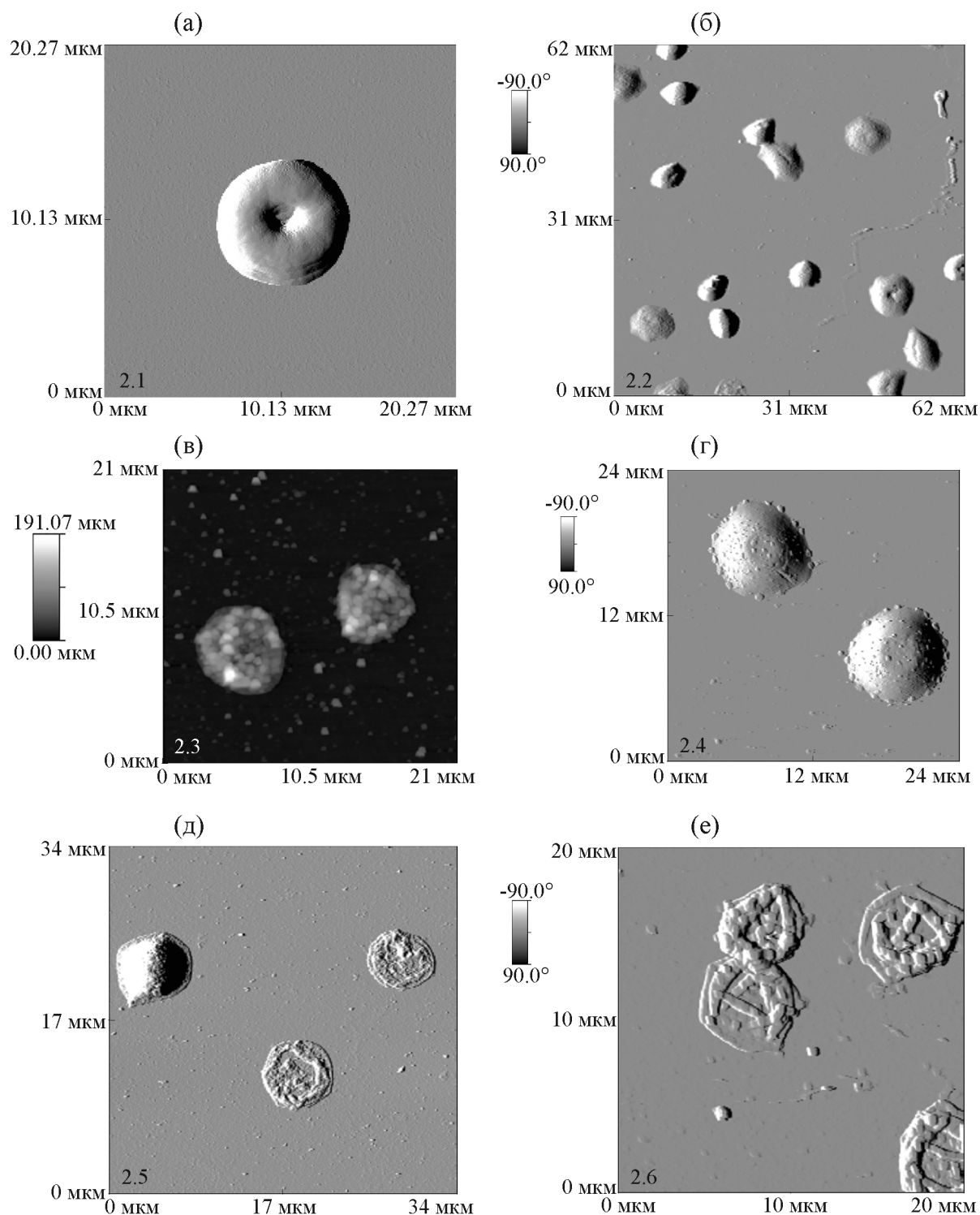


Рис. 2. Морфология эритроцитов в условиях воздействия НИР. (а) – Эритроцит (нормоцит) крысы, не подвергающийся воздействию НИР; (б) – эритроциты после воздействия НИР в расчетной дозе 0,04 мГр; (в) – морфология эритроцитов (эхиноцитов) крови крысы, подвергшейся воздействию НИР в расчетной дозе 0,08 мГр; (г) – образование сфероцитов после воздействия на кровь крысы НИР в расчетной дозе 0,16 мГр; (д) – явления эриптоза и гемолиза эритроцитов при облучении крови крыс НИР в расчетной дозе 0,25 мГр; (е) – тотальный гемолиз эритроцитов при облучении крови крыс в расчетной дозе 0,33 мГр.

щественно отличаются от апоптотической гибели других типов клеток, а сам эриптоз, как

правило, обнаруживается благодаря маркерам, связывающимся с фосфатидилсеринем, выходя-

щим на наружную часть мембраны при апоптозе, вместе с тем доказанным является факт индукции эритроптоза активными формами кислорода [22]. В данном случае образование активных форм кислорода, безусловно, индуцируется ионизирующей радиацией и, видимо, потенцируется возникшим нагревом воды [23]. Доказательством существенной активации перекисного окисления липидов являются наши эксперименты по определению концентрации МДА. Косвенными признаками, позволяющими предполагать развитие эритроптоза, являются уменьшение объема эритроцитов и образование апоптозо-подобных телец.

Увеличение расчетной дозы радиации до 0,25 мГр приводило к гемолизу, на АСМ-сканах обнаруживались тени клеток (рис. 2д). В то же время можно предположить вторичный характер гемолиза, после наступления стадии эритроптоза. По всей вероятности, в данном случае апоптоз является некоторым компенсаторным механизмом, позволяющим сохранять целостность мембраны эритроцита, но увеличение расчетной дозы НИР приводит к срыву этого механизма и, как следствие, гемолизу. На рис. 2д показано, что одна из не разрушенных клеток имеет нетрадиционную форму сфероцита, объем внутриклеточного содержимого, очевидно, уменьшен, о чем свидетельствует появление по периферии клетки тонкого участка мембраны. В то же время на мембране клетки видны явления бляббинга.

Увеличение расчетной дозы до 0,33 мГр приводит к тотальному гемолизу, и на АСМ-сканах обнаруживаются лишь тени эритроцитов (рис. 2е). Но и здесь видно наличие на поверхности клеток и на подложке апоптозо-подобных телец, что, на наш взгляд, свидетельствует о вторичном характере гемолиза. Тени эритроцитов проявляют тенденцию к агрегации, что указывает на потерю электрического заряда.

Таким образом, изменение морфологии эритроцитов подтверждает вывод о том, что в интервале доз 0,08–0,16 мГр структурно-морфологические характеристики клеток меняются существенно, но, тем не менее, преобладает одна и та же форма эритроцитов: эхиноциты (доза 0,08 мГр), либо сфероциты (доза 0,16 мГр). Стабилизация гемолиза на уровне, близком к контрольному, очевидно, обусловлена сохранением стабильной формы эритроцитов. В то же время низкие дозы радиации (0,04 мГр) приводят к выраженному пойкилоцитозу, а нестабильность морфологической формы, вероятно, и является одной из причин гемолиза. Увеличение доз радиации (начиная с расчетной дозы 0,25 мГр) приводит к деструк-

ции клеток с появлением «теней» эритроцитов на АСМ-сканах, что является очевидным доказательством радиоиндуцированного гемолиза.

Установленные изменения структурно-функциональных показателей эритроцитов позволяют предположить, что при действии малых доз ионизирующей радиации запускается программа их апоптоза. Известно, что апоптоз характеризуется рядом стереотипных изменений: сокращение клетки (cell shrinkage), переход фосфотидилсерина в наружный мембранный слой (phosphatidylserine externalization), бляббинг мембраны (cell membrane blebbing), образование апоптозных телец. Вероятно, программа апоптоза запускается на начальных этапах облучения, что определяет временное замедление процесса гемолиза и стабилизацию эритроцитов в интервале доз от 0,08 до 0,16 мГр. Дальнейшее увеличение дозы облучения провоцирует переход от апоптотического ответа к гемолизу (некрозу), который в отличие от апоптоза реализуется за гораздо более короткий промежуток времени, вследствие интенсификации процессов перекисного окисления липидов. Очевидно, что при повышении дозы облучения развивается гемолиз клеток, при котором наблюдается глубокое изменение структуры мембраны. Далее происходит образование пор в мембране с дозированным выходом наружу гемоглобина – медленный и потом быстрый гемолиз, следствием чего является образование теней.

Таким образом, облучение малыми дозами НИР является дестабилизирующим фактором, приводящим к гибели эритроцитов. При этом начальные дозы НИР вызывают перестройку морфофункциональных показателей клеток, вероятно, связанных с ранней стадией апоптоза, что предохраняет эритроциты от полного гемолиза и сопровождается повышением осмотической резистентности мембраны. В условиях повышения дозы облучения развивается ускоренный гемолитический процесс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Л. Х. Эйбус, *Мембранный механизм биологического действия малых доз* (М., ИТЭБ РАН., 2001).
2. L. Galluzzi, I. Vitale, J. M. Abrams, et al., *Cell Death Differ.* **19**, 107 (2012).
3. P. Volpe, T. Parasassi, O. Sapara, et al., *Jnt. J. Radiat. Med.* **1** (1), 79 (1999).
4. P. Golstsein and G. Kroemer, *TIBS* **32**, 3743 (2006).
5. L. Galluzzi, M. C. Maiuri, J. Vitale, et al., *Cell Death Differ.* **14**, 1237 (2007).
6. D. Bratosin, J. Estaquier, F. Petit, et al., *Cell Death Differ.* **8** (12), 1143 (2001).

7. K. S. Lang, P. A. Lang, C. Bauer, et al., *Cell Death Differ.* **12** (5), 415 (2005).
8. K. S. Lang, P. A. Lang, C. Bauer, et al., *Cell Death Differ.* **15** (5), 195 (2005).
9. Е. И. Белевич, Д. Г. Костин и Е. И. Слобожанина, *Успехи соврем. биологии* **134** (2), 149 (2014).
10. E. Lang, S. M. Qadri, and F. Lang, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **44** (8), 1236 (2012).
11. И. В. Миндукшев, В. В. Кривошлык, И. А. Добрылко и др., *Биол. мембраны* **27** (1), 28 (2010).
12. Е. И. Соленов, *Докл. РАН* **436** (3), 427 (2011).
13. W. C. O'Neill, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **256**, 858 (1989).
14. В. М. Лившиц и В. И. Седельникова, *Медицинский лабораторно-аналитический справочник* (М., Триада Х, 2007).
15. В. Н. Крылов и А. В. Дерюгина. *Бюл. эксперим. биологии и медицины* **4**, 364 (2005).
16. С. Н. Плескова, *Атомно-силовая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях* (М., Интеллект, 2011).
17. С. Гланц, *Медико-биологическая статистика* (М., Изд. дом Практика, 1998).
18. Ю. А. Владимиров, *Биол. мембраны* **19** (5), 346 (2002).
19. S. Schwarz, B. Deuticke, and C. W. Haest, *Mol. Membr. Biol.* **16**, 247 (1999).
20. П. А. Кальман и Г. И. Волчкова, *Взаимодействие системы транспорта кальция и аденорецепции в регуляции перекисной резистентности эритроцитов и в активности ферментов антиоксидантной защиты* (Харьков, Изд-во харьк. ун-та, 1993).
21. Е. Б. Бурлакова, А. Н. Голощанов и Н. В. Горбунова, *Радиационная биология. Радэкология* **36** (4), 610 (1996).
22. S. Loots, *Erythrocyte apoptosis (erythroptosis) and anemia in chronic HIV-1 infection: relationship with immune activation and viraemia* (Stellenbosch., University Press, 2013).
23. С. В. Гудков, О. Э. Карп, С. А. Гармаш и др., *Биофизика* **57** (1), 5 (2012).

Low Doses of Ionizing Radiation-induced Apoptotic Nature of Erythrocyte Hemolysis

V.N. Krylov, A.V. Deriugina, S.N. Pleskova, and V.A. Kalinin

Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, pr. Gagarina 23, Nizhny Novgorod, 603600 Russia

It is established that exposure of the red blood cells of the rats to low doses of ionizing radiation (0.04; 0.08; 0.16; 0.25 and 0.33 mGr) leads to non-linear changes in the processes of lipid peroxidation in the membrane of erythrocytes, their electrophoretic mobility, osmotic resistance. In a dose range from 0.08 to 0.16 mGr with ionizing radiation apoptosis that determines a temporary slowing of the process of hemolysis and stabilization of erythrocytes that is confirmed by morphological changes in erythrocytes is most likely triggered.

Key words: apoptosis, hemolysis, ionizing radiation, erythrocytes