

РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ ЭРИТРОЦИТА В РЕГУЛЯЦИИ КОНФОРМАЦИИ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕМОГЛОБИНА

© 2019 г. Г.В. Максимов, О.В. Слатинская, Е.С. Тхор, Н.А. Анисимов*,
С.Н. Мамаева**, В.В. Шутова***

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119892, Москва, Ленинские горы, 1/12

*Государственный научный центр Российской Федерации «Институт медико-биологических проблем РАН»,
123007, Москва, Хорошевское шоссе, 76а

**Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова,
677000, Республика Саха (Якутия), Якутск, ул. Белинского, 58

***Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва,
430005, Саранск, ул. Большевикская, 68

E-mail: gmaximov@mail.ru

Поступила в редакцию 20.07.18 г.

После доработки 09.12.18 г.

Принята к публикации 13.12.18 г.

С помощью спектроскопии комбинационного рассеяния, атомно-силовой микроскопии и лазерной интерферометрии установлено, что изменения содержания факторов роста (ИФР-1) и пуриnergических соединений (АТФ) в крови меняет распределение гемоглобина и конформацию гемопорфирина гемоглобина в эритроците. По мнению авторов, активация рецепторов стимулирует процессы изменения конформации в белковых молекулах цитоскелета и гемоглобина.

Ключевые слова: эритроцит, ИФР-1, АТФ, гемоглобин, гемопорфирин, цитоплазма.

DOI: 10.1134/S0006302919010083

Известно, что изменения содержания факторов роста (ИФР-1) и пуриnergических соединений (АТФ) в крови контролируют кислород-транспортную функцию эритроцитов, за счет активации специфических рецепторов, локализованных на плазматической мембране клетки [1,2]. Кратковременная активация пуриnergических P_2X_7 -рецепторов эритроцита сопровождается увеличением концентрации внутриклеточного Ca^{2+} и деполяризацией мембраны клетки, а их продолжительная активация приводит к экстернализации фосфатидилсерина в плазматической мембране и образованию активных форм кислорода [3,4]. С другой стороны, ИФР-1-рецепторы эритроцита, обладающие тирозинкиназной активностью, активируют киназы и фосфолипазы, а также регулируют содержание цАМФ, транспорт глюкозы и активность Na^+/H^+ -обменника. Важно, что активация ИФР-1 рецепторов способствует фосфорилиро-

ванию белков цитоскелета, меняющих механические свойства мембраны эритроцита [5]. Важно, что активация этих рецепторов сопровождается как конформационными изменениями собственно молекул рецептора, так и их липидного окружения, цитоскелета и цитоплазмы, что в конечном счете модифицирует гемодинамику эритроцитов в сосудах. Установлено, что при активации как P_2X_7 -рецепторов, так ИФР-1-рецепторов изолированных эритроцитов меняется конформация гемопорфирина гемоглобина эритроцита и доля комплексов гемоглобина с оксидом азота (типа I) [1,2].

В настоящее время широко обсуждается вопрос о роли структурных изменений цитоплазмы («краудинг») в регуляции объема и гемодинамики эритроцитов в сосудах [6,7]. Известно, что плазматическая мембрана эритроцита формирует комплекс со спектрино-актиновым цитоскелетом. Спектриновые α - и β -цепи являются тримерами и способны к самопроизвольной агрегации в тетрамеры, которые объединяются с филаментами актина и связываются с белком полосы (БП) 4.1 в «узловой комплекс»,

Сокращения: БП – белок полосы, Гб – гемоглобин, КР – комбинационное рассеяние, ОРХ – оптическая разность хода.

который далее соединяется с гликофоринном С и белком р55. Также спектрин связывается с мембраной с помощью анкирина, связывающего БПЗ, который осуществляет пассивный антипорт Cl^- в клетку и HCO_3^- из клетки, контролируя как состояние гемоглобина, так и механические свойства мембраны эритроцита [8]. N-конец молекулы БПЗ содержит центры для связывания глицеральдегид-6-фосфатдегидрогеназы, альдолазы, каталазы и мембраносвязанного гемоглобина ($\text{Гб}_{\text{пм}}$). При окислительном стрессе и дегидратации клетки наблюдается увеличение $\text{Гб}_{\text{пм}}$, вероятно, за счет уменьшения концентрации 2,3-бисфосфоглицерата, конкурирующего с БПЗ за сайт связывания на Гб , что стабилизирует мембрану эритроцита [9].

В данной работе мы исследовали динамику изменения ряда молекулярно-клеточных параметров эритроцита в цельной крови в присутствии экстраклеточного АТФ и ИФР-1. Известно, что уровень экстраклеточной АТФ в крови регулируется эктоАТФазами и эктонуклеотидазами, локализованными на поверхности клеток, а также фосфатазами и трансфосфорилазами плазмы крови [10]. Кроме того, на поверхности лейкоцитов, макрофагов и тромбоцитов локализованы пуриnergические рецепторы, активация которых стимулирует выброс активных веществ в плазму крови, что, вероятно, оказывает косвенное действие на обеспечение кислород-транспортной функции эритроцита. Отметим, что роль цитоскелета клетки, плазматической мембраны и распределения гемоглобина в цитоплазме эритроцита исследованы в настоящее время явно недостаточно.

Цель данной работы заключалась в исследовании изменений распределения и конформации гемоглобина при активации P_2X_7 -рецепторов и ИФР-1 рецепторов эритроцитов в цельной крови.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служила кровь доноров, стабилизированная гепарином (10 Ед/мл), и эритроциты, инкубированные в течение получаса при 20°C в буфере А (буфер Алена): 145 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 1 мМ CaCl_2 , 1 мМ MgSO_4 , 4 мМ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 1 мМ $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 10 мМ $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ (Sigma, США), pH 7,4). Изолированные эритроциты получали центрифугированием 700 мкл крови с 1300 мкл буфера А (10 мин, 3000 g, 4°C), повторяя процедуру трижды, далее ресуспендировали осадок эритроцитов в буфере А. До проведения экспери-

мента эритроциты нагружали зондом Fura2-AM в диметилсульфоксиде (2 мкМ; Sigma, США) и инкубировали 45 мин при 37°C [11], а удаление внеклеточного зонда проводили центрифугированием (5 мин, 1500 g). В эксперименте использовали АТФ ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_5\text{Na}_2\text{O}_{13}\text{P}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $M = 551,14$ г/моль; Sigma, США), лиофилизированный рекомбинантный ИФР-1 человека ($M = 7,6$ кДа; Sigma, США) и ионофор А23187 (0,0026 г ионофора в 10 мл диметилсульфоксида). В ряде экспериментов эритроциты инкубировали 5 мин с 5 мкМ кальциевого ионофора А23187 в буфере А, содержащем и не содержащем 1 мМ CaCl_2 . Контролем служили клетки, инкубированные в буфере А (pH 7,4) с добавлением диметилсульфоксида.

Исследование конформации гемопорфирина гемоглобина эритроцитов в суспензии и крови проводили методом спектроскопии комбинационного рассеяния (КР). Спектры регистрировали на спектрометре с длиной волны возбуждения 473 нм в течение получаса с шагом 5 мин (20 мВт, $\sim 1-2$ кДж/м²) [12,13].

Содержание внутриклеточного кальция в эритроците определяли с помощью спектрофлуориметра Hitachi 850 (Япония), регистрируя изменения отношения интенсивности полос спектра (I_{335}/I_{362}) флуоресценции внутриклеточного комплекса «Fura2– Ca^{2+} » (при $\lambda_{\text{ex}} = 335$ нм) и свободного Fura2 (при $\lambda_{\text{ex}} = 362$ нм). В отсутствие инъекции АТФ и ИФР-1 в кровь изменений содержания Ca^{2+} в течение 30 мин не обнаружено (данные не представлены).

Мгновенные спектры флуоресценции (интенсивность и время жизни флуоресценции) триптофана гемоглобина и комплекса «Fura2 + Ca^{2+} » регистрировали на спектрофлуориметре Fluoromax 4 (Horiba, Франция) с помощью измерительного комплекса однофотонного счета SimpleTau 140 (Becker & Hickl, Германия). Длительность импульса составляла 25 пс, частота следования импульсов – 50 МГц, энергия одиночного импульса – 13 пДж, накопление сигнала проводили в течение 10 с. В отсутствие инъекции АТФ и ИФР-1 изменений интенсивности и времени жизни флуоресценции в течение 30 мин не обнаружено (данные не представлены).

Амплитуду рельефа поверхности эритроцита, обусловленную структурами цитоскелета и мембранными белками, регистрировали с помощью метода атомно-силовой микроскопии. Для исследования динамики изменения амплитуды рельефа поверхности эритроциты предварительно фиксировали глутаровым альдегидом

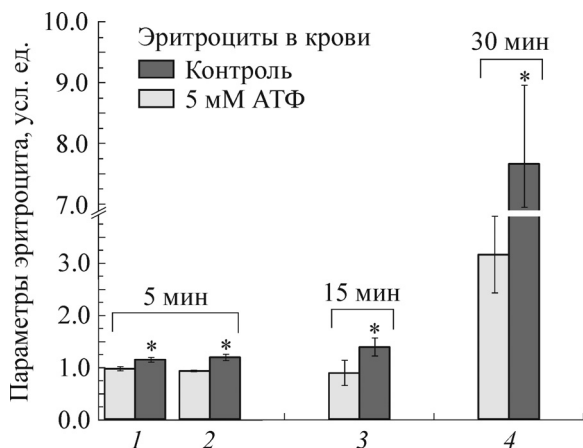


Рис. 1. Изменения молекулярно-клеточных параметров эритроцита при добавлении в кровь 5 мМ АТФ: 1 – оптическая разность хода, 2 – плотность упаковки гемоглобина, 3 – соотношение полос КР-спектра $I_{1618}/(I_{1355} + I_{1375})$ (доля комплексов «гемоглобин–NO (I)»), 4 – доля эхиноцитов первого порядка (в процентах по отношению ко всем формам эритроцитов). * – Результаты достоверно отличаются от контроля по *t*-критерию ($p < 0,05$).

в конечной концентрации 0,5%, клетки наносили методом «мазка» на предметное стекло и высушивали на воздухе в течение 24 ч [14]. Исследование проводили на атомно-силовом микроскопе, входящем в состав NTEGRA SPECTRA («NT-MDT», Зеленоград, Россия). Сканирование осуществляли в области 1×1 мкм (256×256 точек) с частотой 0,5–1,0 Гц, используя кантеливеры NSG 10-A с жесткостью 11,8 Н/м и радиусом кривизны 10 нм. Изображения регистрировали при помощи программного обеспечения Nova и ImageAnalysis («NT-MDT», Зеленоград, Россия). Для характеристики амплитуды рельефа поверхности эритроцитов использовали интегральный параметр шероховатости (S), показывающий отклонение рельефа поверхности от среднего значения. Вклад структур цитоскелета различного размера ($S_2 > 150$ нм $> S_1$) оценивали с применением Фурье-фильтрации и преобразованием пространственного спектра поверхности эритроцита [14].

Изменения показателя преломления цитоплазмы эритроцита и геометрических размеров клетки контролировали методом лазерной интерференционной микроскопии. Исследование проводили на лазерном интерференционном микроскопе, разработанном во ВНИИОФИ на базе микроинтерферометра Линника МИИ-4 («ЛОМО», Россия) с объективом 30× ($NA = 0,65$). Размер регистрируемого кадра составлял 195×145 мкм. Источником излучения служил

полупроводниковый лазер с $\lambda = 650$ нм и $W = 5$ мВт (W на объекте < 2 мВт). Для получения изображений использовали ПЗС-видеокамеру VS-415U (ЗАО «НПК Видеоскан», Россия), с размером матрицы 650×483 мкм, разрешением 782×582 точки. Общее время получения одного фазового изображения составляло 10 с. Для восстановления фазового изображения по девяти регистрируемым интерферограммам использовали программу WinPhast, для последующей работы с изображениями – программы FIJI и Microcal Origin. Реконструкцию фазового изображения осуществляли с помощью метода фазовых шагов. По полученному фазовому изображению вычисляли оптическую разность хода (ОРХ), площадь клетки и плотность упаковки гемоглобина эритроцита [15].

Жизнеспособность и форму эритроцитов определяли с помощью микроскопа «Ахиоплан 2» (Carl Zeiss Group, Германия) с объективом 60× ($NA = 0,6$). Изображения (160×140 мкм) регистрировали встроенной видеокамерой. Для каждой пробы исследовали форму не менее 100 клеток. В работе получен материал на 35 различных образцах крови с повторностью 5. Для каждой пробы оценивали морфологию не менее 400 клеток.

Полученные данные обрабатывали стандартными статистическими методами в программе Statistica 8.0: вычисляли среднее арифметическое значение (M) и стандартную ошибку среднего (se) для экспериментальных и контрольных результатов. Используя *t*-критерий Стьюдента ($p < 0,05$), оценивали достоверность полученных результатов, а непараметрический критерий Вилкоксона применяли для оценки значимости различий двух связанных выборок ($p < 0,05$) [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования было установлено, что при добавлении АТФ в кровь наблюдается увеличение ОРХ эритроцитов (плотности упаковки гемоглобина) и конформация гемопорфирина гемоглобина: к 15-й минуте выявлено обратимое изменение конформации пирролов гемопорфирина гемоглобина, приводящее к увеличению доли комплексов гемоглобина с NO (рис. 1). При добавлении в кровь ИФР-1 через 5 мин увеличивается плотность упаковки гемоглобина, но уменьшается вклад цитоскелета в рельеф поверхности клетки, а к 10-й минуте меняется конформация гемопорфирина гемоглобина, приводящая как к увеличению доли

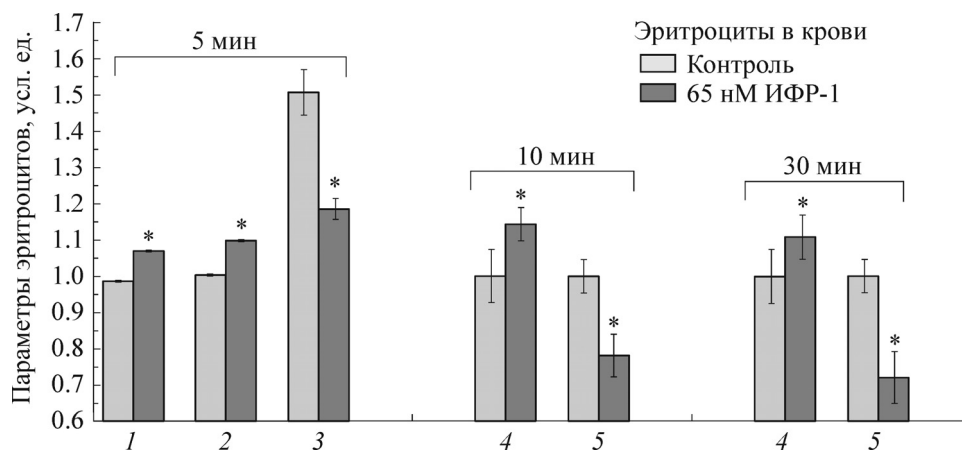


Рис. 2. Изменения молекулярно-клеточных параметров эритроцитов при добавлении в кровь 65 нМ ИФР-1: 1 – оптическая разность хода, 2 – плотность упаковки гемоглобина, 3 – амплитуда рельефа поверхности ($S_1 < 150$ нм), 4 – соотношение интенсивностей полос КР-спектра $I_{1355}/(I_{1355} + I_{1375})$ (доля оксигемоглобина), 5 – соотношение интенсивностей полос КР-спектра I_{1355}/I_{1552} (способность гемоглобина связывать лиганды). * – Результаты достоверно отличаются от контроля по t -критерию ($p < 0,05$).

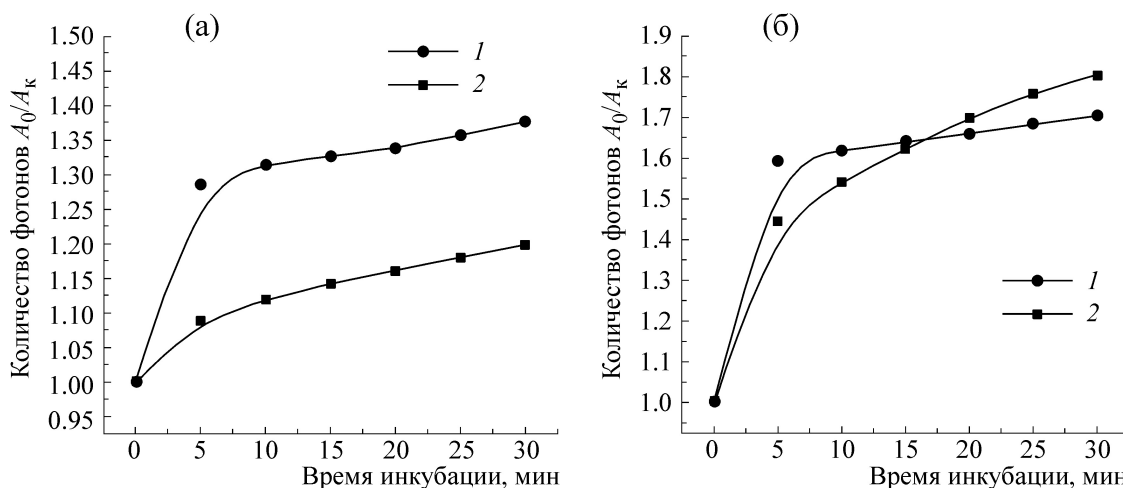


Рис. 3. Динамика интенсивности флуоресценции триптофана (1) и комплекса «Fura2–Ca²⁺» (2) при инкубации эритроцитов с 5 мМ АТФ (а) и 65 нМ ИФР-1 (б).

комплексов гемоглобина с O₂, так и к снижению способности гемоглобина связывать лиганды [1,2]. На рисунках представлены максимальные изменения исследуемых параметров, которые были выявлены при разных временах действия АТФ и ИФР-1, что обусловлено вкладом различных процессов при активации рецепторов в крови, и, вероятно, характеризует последовательность изменения данных параметров в клетке. Итак, в крови эритроциты в присутствии ИФР-1 изменяют свою форму, рельеф поверхности и плотность упаковки гемоглобина (рис. 2).

В ходе эксперимента установлено, что в течение 5 мин инкубации с АТФ содержание

Ca²⁺ в эритроците увеличивается, вероятно, за счет активации P₂X₇-рецепторов (рис. 3б). Отметим, что в отсутствие инъекции АТФ и ИФР-1 в среду с эритроцитами изменений содержания Ca²⁺ в течение 30 мин не обнаружено (данные не представлены). Важно, что при инкубации эритроцитов с АТФ и ИФР-1 и активации соответствующих рецепторов интенсивность флуоресценции триптофана белков эритроцита возрастает, а затем стабилизируется и выходит на «плато», вероятно, за счет конформационных перестроек в белковых молекулах цитоскелета и/или непосредственно молекулы гемоглобина (рис. 3а). Установлено, что при увеличении содержания внутриклеточного кальция без активации рецепторов (инкубация эритроцитов с

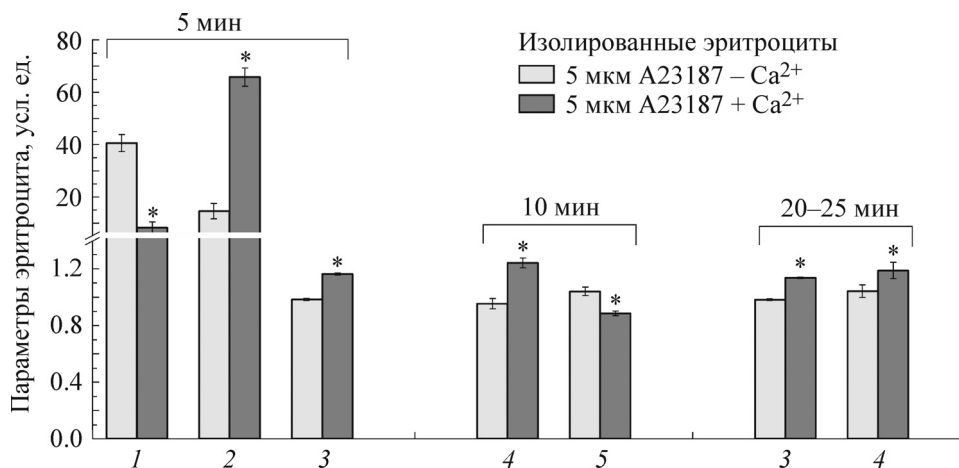


Рис. 4. Изменения молекулярно-клеточных параметров при инкубации эритроцитов с 5 мкМ А23187: 1 – доля клеток (процент дискоцитов по отношению ко всем формам эритроцитов); 2 – процент эхиноцитов третьего порядка по отношению ко всем формам эритроцитов); 3 – соотношение «опыт/контроль» для оптической разности хода, 4 – соотношение «опыт/контроль» интенсивностей полос $I_{1618}/(I_{1355} + I_{1375})$ КР-спектра (доля комплексов гемоглобина с NO (I), 5 – соотношение интенсивностей полос I_{1375}/I_{1580} КР-спектра (способность гемоглобина сбрасывать лиганды). Эритроциты инкубировали 5 мин с 5 мкМ кальциевого ионофора А23187 в буфере А, содержащем 1 мМ CaCl_2 (темные столбики) и лишенном ионов кальция (светлые столбики). Контролем служили клетки, инкубированные в соответствующем буфере А (рН 7,4) с добавлением диметилсульфоксида. * – Результаты достоверно отличаются от контроля с безкальциевым буфером по *t*-критерию ($p < 0,05$).

ионофором А23187) возрастают ОРХ эритроцитов (плотность упаковки гемоглобина) и доля комплексов гемоглобина с оксидом азота (I) (рис. 4). Вероятно, вход Ca^{2+} вызывает характерные изменения конформации гемопорфирина гемоглобина в клетке: при связывании катиона с белками цитоплазмы и/или гемоглобина меняется конформация некоторых белков, а также распределение и конформация гемоглобина. Последнее вызывает изменение конформации гемопорфирина гемоглобина: пирролы молекулы располагаются более симметрично, метиновые «мостики» макроцикла менее деформированы, что способствует реализации кооперативных «гем-гем» свойств гемоглобина [12].

Вероятно, увеличение Ca^{2+} в эритроците при активации пуриновых P_2X_7 -рецепторов, приводит к изменениям конформации гемоглобина, белков цитоскелета и мембраны клетки. При уменьшении электростатического заряда мембраны эритроцита как суммарного, так и на внутренней поверхности мембраны наблюдается увеличение количества свободных ОН-групп тирозина ряда белков мембраны, например, белка полосы 3, что и было зарегистрировано в эксперименте. Известно, что окси- и дезокси-формы Гб характеризуется различной конформацией белка: остаток тирозина в дезокси-форме Гб находится в «кармане» между спиралями F и H и связан водородной связью с карбонильной группой валина. Триптофан

α -цепи в положении 37 и тирозин β (42) выполняет важную роль при перемещении субъединиц $\alpha_1\beta_2$ и $\alpha_2\beta_1$ относительно друг друга. При связывании O_2 гемоглобинов гемы двух β -цепей сближаются друг с другом, а гемы двух α -цепей – раздвигаются, центральная полость молекулы уменьшается. Аминокислотные остатки в α - и β -цепях, связывающие ионы H^+ , перемещаются из относительно гидрофильного окружения в более гидрофобное и приобретают свойства более сильных кислот, что облегчает отщепление протонов [17,18]. Вероятно, увеличение интенсивности флуоресценции триптофана эритроцитов связано с конформационными перестройками белковых молекул и изменением пространственного расположения триптофана или с переносом энергии от тирозиновых аминокислотных остатков, эффективность которого зависит от структуры белка. При инкубации эритроцитов с АТФ Гб переходит в R-форму, что сопровождается перемещением субъединиц $\alpha_1\beta_2$ и $\alpha_2\beta_1$ относительно друг друга, сближением гемов β -цепей и расхождением α -цепей, а триптофан α -цепи в положении 37 и тирозин β (42) перемещаются в более гидрофобное окружение [19,20].

Известно, что локализованные на поверхности мембраны эритроцита специфические тирозинкиназные рецепторы при активации ИФР-1 инициируют процесс фосфорилирования белков

цитоскелета, БПЗ, стимулируют NO-синтазу, модифицируют активность ионных насосов (Ca^{2+} -АТФазы, Na^+/K^+ -АТФазы) и протеинкиназ. В данном случае конформация белков, содержащих триптофан, претерпевает ряд характерных изменений за счет перемещения аминокислоты либо в область с более гидрофобным окружением, либо от миграции энергии с тирозина, что отражается в изменении флуоресценции триптофана [21,22]. Важно, что изменение флуоресценции триптофана изолированных эритроцитов согласуется с установленным ранее увеличением доли гексакоординированных комплексов Гб с NO, за счет конформационных перестроек как на уровне одной субъединицы, так и всей молекулы Гб [1,2,12].

Наконец, при активации рецепторов эритроцита наблюдается перераспределение молекул гемоглобина в цитоплазме с образованием, вероятно, плотно упакованных комплексов. Действительно, в серии экспериментов (АТФ, ИФР-1, А23187) в эритроците выявлено увеличение ОРХ, вероятно, за счет изменения упорядоченности распределения белков и гемоглобина в цитоплазме клеток. Последнее может быть связано с перераспределением внутриклеточного Ca^{2+} : гидратная оболочка молекул гемоглобина уменьшается, за счет конкуренции Ca^{2+} с молекулами воды за сайты связывания с гемоглобином, что способствует сближению молекул гемоглобина и увеличению ОРХ. Параллельно изменение поверхностного заряда мембраны может менять соотношение мембраносвязанной и цитоплазматической фракции гемоглобина [23,24].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. С. С. Коваленко, А. И. Юсипович, Е. Ю. Паршина и Г. В. Максимов, Бюл. эксперим. биологии и медицины **159** (2), 170 (2015).
2. С. С. Коваленко, Е. Ю. Паршина, А. И. Юсипович и др., Биофизика **59** (6), 1093 (2014).
3. H. Yan, M. Mitschelen, G. V. Bixler, et al., J. Endocrinol. **211** (1), 27 (2011).
4. E. H. Abraham, K. M. Sterling, R. J. Kim, et al., Blood Cells, Molecules, and Diseases **27** (1), 165 (2001).
5. R. Sluyter and L. Stokes., Recent Pat DNA Gene Seq. **5** (1), 41 (2011).
6. O. G. Luneva, S. V. Sidorenko, G. V. Maksimov, et al., Biochemistry **9** (3), 161 (2015).
7. S. V. Sidorenko, R. H. Ziganshin, O. G. Luneva, et al., J. Proteomics **184**, 25 (2018).
8. M. C. De Rosa, C. C. Alinovi, A. Galtieri, et al., IUBMB Life **60** (2), 87 (2008).
9. K. Murakami and S. Mawatari, Arch. Biochem. Biophys. **417** (2), 244 (2003).
10. N. Montalbetti, M. F. Leal Denis, O. P. Pignataro, et al., J. Biol. Chem. **286** (44), 38397 (2011).
11. L. Soldati, Nephrology Dialysis Transplantation **16** (1), 85 (2001).
12. N. Brazhe, S. Abdali, A. Brazhe, et al., Biophys. J. **97** (12), 3206 (2009).
13. S. M. Ascencio, C. Choe, M. C. Meinke, et al., Eur. J. Pharmaceut. Biopharmaceut. **104**, 51 (2016).
14. E. Parshina, A. Yusipovich, A. Platonova, et al., Pflugers Arch. Eur. J. Physiol. **465** (7), 977 (2013).
15. A. Yusipovich, Y. Berestovskaya, V. Shutova, et al., Measurement Techniques **55** (3), 351 (2012).
16. А. М. Гржибовский, Экология человека, № 3, 57 (2014).
17. J.-S. Fan, Y. Zheng, W.-Y. Choy, et al., Biochemistry **52** (34), 5809 (2013).
18. M. Takayanagi, I. Kurisaki, M. Nagaoka, Sci. Reports **4**, 4601 (2014).
19. J. Hewinson and A. B. MacKenzie, Biochem. Soc. Trans. **35** (5), 1168 (2007).
20. A. J. Marengo-Rowe, Proc. Bayl. Univ. Med. Cent. **19**, 239 (2006).
21. X. Hu and T. G. Spiro, Biochemistry **36**, 15701 (1997).
22. G. Minetti, G. Piccinini, C. Balduini, et al., Biochem. J. **320**, 445 (1996).
23. C. Kelemen, S. Chien, and G. M. Artmann, Biophys. J. **80** (6), 2622 (2001).
24. S. Koltsova, G. Maximov, S. Kotelevtsev, et al., Purinergic Signalling **5** (3), 343 (2009).

The Role of Erythrocyte Receptors in Regulation of the Conformation and Distribution of Hemoglobin

G.V. Maksimov*, **O.V. Slatinskaya***, **E.S. Tkhor***, **N.A. Anisimov****,
S.N. Mamaeva***, and **V.V. Shutova******

**Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1/12, Moscow, 119892 Russia*

*** State Scientific Center "Institute of Biomedical Problems", Khoroshevskoe shosse 76a, Moscow, 123007 Russia*

****North-Eastern Federal University named after M.K. Ammosov,
ul. Belinskogo, 58, Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia), 677000 Russia*

*****National Research Ogarev Mordovia State University,
ul. Bolshevistskaya 68, Saransk, Republic of Mordovia, 430005 Russia*

Using Raman spectroscopy, atomic force microscopy and laser interferometry it was found that variations in insulin-like growth factor (IGF-1) and purine compounds such as ATP in the blood influence hemoglobin distribution and conformation of erythrocyte hemoglobin hematoporphyrin. Our results suggest that receptor activation promotes changes in conformation in cytoskeletal protein molecules and hemoglobin.

Keywords: erythrocyte, IGF-1, ATP, hemoglobin, hematoporphyrin, cytoplasm