

УДК 616.36-008.12-036.72

Электрические параметры и структура мембран эритроцитов при диффузных заболеваниях печени

С.А. Курилович¹, М.В. Кручинина¹, В.М. Генералов², Т.С. Бакиров²,
В.А. Рихтер³, Д.В. Семенов³

¹ГУ НИИ терапии СО РАМН,

²ФГУН ГНЦ ВБ Вектор Роспотребнадзора,

³Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН)

Electrical parameters and structure of membranes of erythrocytes at diffuse liver diseases

S.A. Kurilovich, M.V. Kruchinina, V.M. Generalov, T.S. Bakirov, V.A. Rikhter, D.V. Semenov

Цель исследования. Сопоставить электрические характеристики эритроцитов со структурными изменениями их мембран при диффузной патологии печени (ДПП).

Материал и методы. Обследовано 130 мужчин 35–60 лет с ДПП (хронический гепатит и цирроз) и 33 практически здоровых лица сопоставимого возраста. Параметры красной крови определяли стандартными методами, структуру мембран эритроцитов исследовали методом тонкослойной хроматографии, электрические свойства – методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле в частотном диапазоне $0,05 \cdot 10^6$ – $1 \cdot 10^6$ Гц.

Результаты. У больных с ДПП электрическая проводимость мембраны, индексы агрегации, деструкции, емкость мембран эритроцитов выше, а скорость движения клеток к электродам – ниже, чем в контроле ($p < 0,0001$ – $0,05$). Эти отклонения нарастают по мере утяжеления заболевания и тесно связаны с изменениями липидного состава мембран эритроцитов – увеличением относительного содержания фракции холестерина (ХС) на фоне снижения уровня общих липидов, относительного содержания фосфолипидов (ФЛ), триглицеридов и эфиров холестерина ($p < 0,002$ – $0,05$). Соотношение ХС/ФЛ возрастает за счет снижения уровня общих ФЛ и увеличения относительного содержания лизофракций ФЛ. Параллельно возрастает индекс деструкции эритроцитов.

Выводы. Полученные изменения электрических характеристик эритроцитов и структурных компонентов их мембран могут быть использованы для оценки тяжести диффузных заболеваний печени и определения эффективности лечения.

Ключевые слова: диффузная патология печени, эритроциты, структура мембран, электрические параметры.

Aim of investigation. To compare electrical characteristics of erythrocytes to structural changes of their membranes at *diffuse liver disease* (DLD).

Materials and methods. One hundred and thirty men 35–60 year old with DLD (chronic hepatitis and cirrhosis) and 33 practically healthy persons of comparable age were investigated. Parameters of red blood cells were assessed by standard methods, structure of erythrocyte membranes was investigated by thin-layer chromatography method, electrical properties by dielectrophoresis method in heterogeneous variable electrical field in $0,05 \cdot 10^6$ – $1 \cdot 10^6$ Hz frequency range.

Results. In DLD patients electrical conduction of membrane, scores of aggregation, destruction, capacity of membranes of erythrocytes is higher, and migration speed of cells to electrodes – is lower, than in control ($p < 0,0001$ – $0,05$). These disorders grow along with severity of disease and are intimately linked to changes of lipid composition of erythrocyte membranes – increase of cholesterol fraction relative content with decrease of level of total lipids, relative content of *phospholipids* (PL), triglycerides and cholesterol aethers ($p < 0,002$ – $0,05$). Cholesterol to PL ratio grows due to decrease of total PLs level and increase of PL lysofractions relative content. The score of erythrocyte destruction grows respectively.

Conclusions. Obtained changes of erythrocyte electrical characteristics and structural components of their membranes can be used for evaluation of severity of diffuse liver diseases and assessment of treatment efficacy.

Key words: diffuse liver disease, erythrocytes, structure of membranes, electrical parameters.

Хронические диффузные заболевания печени являются широко распространенной патологией с тенденцией к дальнейшему росту [1, 7]. Поэтому вопросы о их своевременной и качественной диагностике, рисках, стадии и прогнозе являются весьма актуальными. Решение данных вопросов возможно только на базе знаний патогенетических механизмов развития болезни под действием разных этиологических факторов, основными из которых остаются вирусы и алкоголь.

Известно, что на фоне прогрессирования *диффузной патологии печени* (ДПП) происходят значительные сдвиги в показателях красной крови [6–8]. Это определяется как изменениями на уровне костного мозга (синтез эритроцитов со сниженной резистентностью, с измененным липидным, белковым составом), так и воздействием на эритроциты на периферии продуктами эндо- и экзогенной интоксикации. Выраженные сдвиги в структуре эритроцитов на фоне ДПП приводят к изменению их электрических характеристик [3, 15]. Очевидно, эти процессы будут усиливать агрегацию и деструкцию клеток, что, в свою очередь, способствует прогрессированию патологии печени, т. е. создается порочный круг. Однако в указанных взаимосвязях остается много неясного, поэтому требуются дальнейшие исследования.

Цель работы — сопоставить электрические характеристики эритроцитов со структурными изменениями их мембран при диффузной патологии печени.

Материал и методы исследования

Обследовано 130 мужчин в возрасте от 35 до 60 лет с диффузной патологией печени. В зависимости от стадии заболевания они были разделены на две группы. Стадия болезни определялась на основании клинических, биохимических и инструментальных исследований. У 19 пациентов (5 — с гепатитом, 14 — с циррозом) выполнена биопсия печени. Этиологическая структура патологии печени у включенных в исследование больных представлена в табл. 1.

В *первую группу* вошли 97 больных *хроническим гепатитом* (ХГ) вирусного, алкогольного и смешанного генеза (с минимальной активностью процесса — 25, умеренной активностью — 67 и высокой — 5). Во *вторую группу* включены

33 больных *циррозом печени* (ЦП) класса А и В по Чайлд–Пью (преимущественно класса В — 81,8%). *Группу сравнения* составили практически здоровые лица (33) в возрасте 35–60 лет, ведущие здоровый образ жизни и употребляющие алкоголь не чаще 1–2 раз в месяц в умеренных дозах, у которых при клиническом, лабораторном и инструментальном исследованиях не выявлено признаков заболевания печени.

Обследование выполнено с одобрения Комитета биомедицинской этики ГУ НИИ терапии СО РАМН (протокол заседания от 14.09.2002 г.). Все обследуемые заполняли стандартные анкеты: 1) информированное согласие на участие в исследовании; 2) стандартную анкету о частоте и дозах потребляемого алкоголя. У больных с верифицированными диагнозами, а также у мужчин группы сравнения, помимо рутинных методов оценки эритроцитов, исследовали их структурно-функциональные параметры методом *диэлектрофореза* (ДЭФ) в *неоднородном переменном электрическом поле* (НПЭП). Кроме того, исследовали липидный состав мембран эритроцитов с применением тонкослойной хроматографии.

Количество эритроцитов в 1 мкл измеряли унифицированным методом автоматического подсчета эритроцитов на анализаторе «Лаборскель» (ВНР, фирма «Медикор»). Общее содержание гемоглобина определяли гемоглобинцианидным методом фотометрически с помощью стандартных наборов «Реахим» (СССР), цветовой показатель — по стандартным формулам, подсчет количества ретикулоцитов осуществлялся при помощи люминесцентной микроскопии [5].

Для проведения ДЭФ кровь объемом 2 мл забирали вокутайнерами в 3,7% цитратный буфер в соотношении 9:1, через 1 ч кровь вносили в 0,3 М раствор сахарозы (рН 7,36) в соотношении 1:20. Измерение изучаемых характеристик эритроцитов проводили сразу после разведения. В измерительной ячейке на клетки воздействовали НПЭП со следующими параметрами: напряженность электрического поля 10^5 В/м, градиент напряженности электрического поля 10^{11} В/м², частотный диапазон $5 \cdot 10^4$ – 10^6 Гц. Оценивали электропроводность мембран, индексы агрегации и деструкции эритроцитов, емкость мембран клеток, скорость движения эритроцитов к электродам, положение равновесной частоты.

Таблица 1

Этиологическая структура диффузной патологии печени у обследованных больных

Диагноз	Этиология				
	HCV	HBV	HCV+HBV (HDV+HBV)	В том числе вирус + алкоголь	Алкоголь
Хронический гепатит (n=97)	18	23	10 (+1)	21	45
Цирроз печени (n=33)	10	8	7	13	8

Определение *фосфолипидов* (ФЛ) в эритроцитах проводили путем двухмерной тонкослойной хроматографии по методу Э. Шталь (1965) на пластинках Kissellgell «Merck» F₂₅₄ (Германия) в системе растворителей хлороформ:метанол:28% водный аммиак (50:35:5 мл). При оценке результатов учитывали величину относительной подвижности отдельных фракций ФЛ на пластине. Их количественное определение проводили по содержанию неорганического фосфора (P_n) после сжигания органической части. Для определения P_n использовали унифицированный метод (Меньшиков В.В., 1987). Содержание *холестерина* (ХС) мембран эритроцитов исследовали методом Златкиса—Зака. Липиды мембран, полученные трехкратным гемолизом эритроцитов дистиллированной водой, выделяли методом J. Folsh и соавт. Общее содержание липидов в мембранах эритроцитов определяли по методу W. Bloog в модификации J. Brandon. Спектр нейтральных липидов оценивали методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Sorbfil» (Россия) в системе гептан:диэтиловый эфир:этилацетат (80:20:1,5 мл). Идентификацию фракций липидов проводили с помощью соответствующих стандартов («Sigma», США).

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы SPSS, ver. 10. Достоверность различия показателей оценивали по критериям Стьюдента, Пирсона — в случае, когда распределение подчинялось нормальному закону. При отклонении распределения от нормального использовали непараметрические критерии (U-критерий Манна—Уитни, Колмогорова—Смирнова).

Результаты исследования и их обсуждение

Показатели красной крови у больных с диффузной патологией печени в объединенной группе отличались достоверно более низкими количеством эритроцитов и уровнем гемоглобина по сравнению с группой контроля. При этом у больных ЦП те же показатели были достоверно ниже, чем на стадии гепатита. Цветовой показатель и коли-

чество ретикулоцитов в общей группе не отличались от контроля, но при циррозе были также значительно ниже (табл. 2).

Исследование электрических характеристик эритроцитов методом ДЭФ показало более высокую электропроводность мембран эритроцитов и более низкую скорость движения эритроцитов к электродам у обследованных больных по сравнению с контролем с тенденцией к более выраженным отличиям при ЦП (табл. 3). При этом электропроводность мембран эритроцитов обратно и высоко достоверно коррелировала с количеством эритроцитов, уровнем гемоглобина и величиной цветового показателя как в общей группе больных, так и отдельно при гепатитах и циррозах (в подгруппе больных ЦП отмечена наибольшая сила связи: $r = -0,856$, $p < 0,014$ для количества эритроцитов; $r = -0,957$, $p < 0,001$ для уровня гемоглобина и $r = -0,850$, $p < 0,01$ для цветового показателя).

Емкость клеточной мембраны, индексы агрегации, деструкции имели наибольшие значения при циррозах печени, достоверно отличаясь от аналогичных характеристик как у пациентов с гепатитами ($p < 0,0001-0,02$), так и в группе сравнения ($p < 0,0001-0,05$). Равновесная частота у пациентов с диффузной патологией печени оказалась сдвинутой в высокочастотный диапазон, увеличиваясь по величине от стадии гепатита к стадии цирроза ($p < 0,02$). Получены обратные корреляции величин индексов агрегации и деструкции на высоких частотах (10^6 , $5 \cdot 10^5$ Гц) с количеством эритроцитов (при частоте 10^6 Гц $r = -0,612$, $p < 0,02$ для индекса агрегации и $r = -0,504$, $p < 0,001$ для индекса деструкции в общей группе больных с ДПП), уровнем гемоглобина (при частоте 10^6 Гц $r = -0,423$, $p < 0,05$ для индекса агрегации и $r = -0,395$, $p < 0,01$ для индекса деструкции соответственно) и прямые корреляции с уровнем ретикулоцитов, особенно в подгруппе пациентов с ЦП (при частоте 10^6 Гц $r = +0,531$, $p < 0,03$ для индекса агрегации и $r = +0,494$, $p < 0,01$ для индекса деструкции).

Исследование мембран эритроцитов показало достоверно большее относительное содержание

Таблица 2

Показатели красной крови у больных с ДПП и лиц группы сравнения ($\bar{x} \pm m_x$)

Группа	Количество эритроцитов, $\times 10^{12}/л$	Концентрация гемоглобина, г/л	Цветовой показатель	Процент ретикулоцитов в объеме, ‰
Группа сравнения ($n=33$)	$4,51 \pm 0,045$	$147,9 \pm 1,80$	$0,96 \pm 0,0062$	$7,8 \pm 0,22$
Больные с ДПП ($n=130$)	$4,26 \pm 0,041^*$	$135,1 \pm 1,69^e$	$0,95 \pm 0,0061$	$6,5 \pm 0,90$
Больные ХГ ($n=97$)	$4,39 \pm 0,044^*$	$140,35 \pm 1,61^*$	$0,96 \pm 0,0047$	$6,91 \pm 0,27^{\#}$
Больные ЦП ($n=33$)	$3,97 \pm 0,08^{e@}$	$123,31 \pm 3,99^{e@}$	$0,92 \pm 0,016^{\Delta}$	$5,63 \pm 0,31^{e\Delta}$

Достоверность отличия от группы сравнения:

* $p < 0,05$, # $p < 0,02$, $^e p < 0,01$, $^{e\Delta} p < 0,0001$.

Достоверность отличия от группы больных ХГ:

$^{\Delta} p < 0,05$, $^{\Delta} p < 0,02$, $^{\Delta} p < 0,01$, $^{e\Delta} p < 0,0001$.

Таблица 3

Электрические характеристики эритроцитов у больных гепатитами и циррозами печени ($\bar{x} \pm m_x$)

Группа	Электропроводность, см/м	Скорость движения эритроцитов к электродам, мкм/с	Емкость клеточной мембраны, Ф	Положение равновесной частоты, Гц	Индекс агрегации эритроцитов, усл. ед.	Индекс деструкции эритроцитов, %
Группа сравнения	$2,91 \cdot 10^{-5} \pm 3,0 \cdot 10^{-6}$	$14,70 \pm 2,34$	$3,18 \cdot 10^{-14} \pm 2,23 \cdot 10^{-15}$	$4,65 \cdot 10^5 \pm 4,63 \cdot 10^6$	$0,42 \pm 0,011$	$1,09 \pm 0,72$
Больные ХГ	$5,61 \cdot 10^{-5} \pm 1,12 \cdot 10^{-5\#}$	$9,45 \pm 1,71^*$	$6,12 \cdot 10^{-14} \pm 4,29 \cdot 10^{-15\epsilon}$	$6,87 \cdot 10^5 \pm 3,61 \cdot 10^{6\epsilon}$	$0,64 \pm 0,03^\epsilon$	$3,24 \pm 0,68^*$
Больные ЦП	$7,18 \cdot 10^{-5} \pm 3,4 \cdot 10^{-5*}$	$6,79 \pm 2,08^*$	$12,10 \cdot 10^{-14} \pm 3,39 \cdot 10^{-15\epsilon@}$	$8,23 \cdot 10^5 \pm 4,34 \cdot 10^{6\epsilon\Delta}$	$0,75 \pm 0,01^{\epsilon@}$	$5,63 \pm 0,53^{\epsilon\blacklozenge}$

Достоверность отличия от группы сравнения:

* $p < 0,05$, # $p < 0,02$, * $p < 0,01$, $\epsilon p < 0,0001$.

Достоверность отличия от группы больных ХГ:

 $\wedge p < 0,05$, $\Delta p < 0,02$, $\blacklozenge p < 0,01$, $@p < 0,0001$.

Таблица 4

Содержание общих липидов и их состав в мембранах эритроцитов у больных с ДПП ($\bar{x} \pm m_x$)

Группа	Общие липиды, г/л ($p < 0,002$)	Фракция, %				Холестерин/фосфолипидный индекс, ммоль/моль ($p < 0,0001$)
		общих фосфолипидов ($p < 0,01$)	холестериновая ($p < 0,05$)	триглицеридов ($p < 0,05$)	эфиров холестерина ($p < 0,05$)	
Группа сравнения	$3,7 \pm 0,12$	$24,2 \pm 0,87$	$33,6 \pm 1,76$	$20,0 \pm 1,01$	$22,1 \pm 0,98$	$1,0 \pm 0,03$
Больные с ДПП	$2,9 \pm 0,25$	$21,4 \pm 0,94$	$42,0 \pm 1,34$	$16,8 \pm 1,34$	$19,7 \pm 0,92$	$1,8 \pm 0,05$

холестериновой фракции, соотношения холестерин/фосфолипиды, меньший уровень общих липидов и относительного содержания общих фосфолипидов, триглицеридов и эфиров холестерина у больных с ДПП по сравнению с контролем (табл. 4).

Найдены прямые корреляции величин электропроводности с уровнем холестериновой фракции в мембранах эритроцитов ($r = +0,57$, $p < 0,03$), и значением индекса холестерин/фосфолипиды ($r = +0,411$, $p < 0,048$).

Дополнительный анализ фракций фосфолипидов выявил достоверно большее содержание лизофосфатидилхолина в мембранах эритроцитов у пациентов с ДПП ($9,7 \pm 0,65\%$ против $7,0 \pm 0,87\%$ в контроле, $p < 0,02$), величина данного показателя прямо коррелировала с индексом деструкции при частоте электрического поля 10^6 Гц ($r = +0,420$, $p < 0,05$).

В ходе проведенного исследования у больных ХГ и ЦП обнаружены изменения параметров красной крови, электрических характеристик эритроцитов, состава их мембран в зависимости от стадии заболевания. Взаимосвязь между ними требует некоторых пояснений. Снижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина, цветового показателя от стадии гепатита к стадии цирроза печени отражает истощение компенсаторных механизмов красного ростка и свидетельствует об усилении гипоксии по мере утяжеления патоло-

гического процесса в печени. Среди причин возникновения подобных изменений красного ростка существенную роль играет повышенный гемолиз зрелых клеток красной крови [1, 3, 7], что подтверждается достоверным увеличением индекса деструкции от стадии гепатита к циррозу. Тесная связь индексов деструкции и агрегации позволяет предположить, что агрегация неполноценных эритроцитов со сниженной резистентностью при последующей их деструкции является способом элиминации эритроцитов с измененной антигенной структурой. Избыточный гемолиз обычно сопровождается повышением количества ретикулоцитов, что отражает регенеративные свойства костного мозга. Снижение уровня ретикулоцитов при ЦП связано, очевидно, со снижением компенсаторных возможностей эритропоэза при тяжелых степенях фиброза печени.

Образование агрегатов эритроцитов происходит при условии отсутствия электростатического отталкивания между клетками. Это возможно в двух случаях: *во-первых*, при появлении в русле крови эритроцитов с положительной величиной интегрального электрического заряда на поверхности мембраны, *во-вторых*, при снижении отрицательного интегрального заряда на поверхности мембраны до критической величины (вероятно, до нуля). Эту гипотезу мы пытались проверить, сравнивая поведение эритроцитов на разных стадиях заболевания. Оказалось, что прогресси-

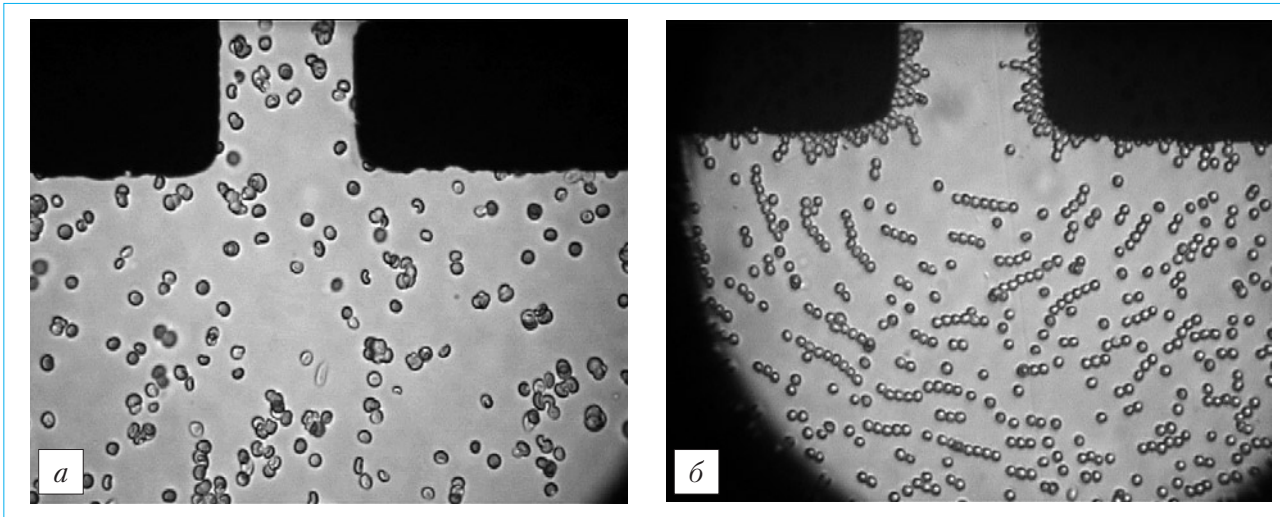


Рис. 1. Агрегаты эритроцитов у пациентов с гепатитом (а) и циррозом печени (б). Световая микроскопия (×1800), нативные препараты

рование диффузной патологии печени приводит к изменению структуры мембран эритроцитов (содержание фосфолипидов, холестерина и др.), изменению проводимости, емкости эритроцитов, снижению интегрального заряда на поверхности мембраны или даже изменению его знака с минуса на плюс для относительно небольшого количества эритроцитов. Электростатическое отталкивание между эритроцитами при снижении величины заряда уменьшается, легче возникают агрегаты между условно положительными и отрицательными эритроцитами (рис. 1). Они агрегируют по схеме: один положительный эритроцит агрегирует с 1–10 отрицательными. В плоскости сечение агрегата выглядит как розетка.

Снижение потенциала на мембране эритроцита приводит к его деструкции, так как напряженность поля на мембране падает. Это вызывает нарушение взаимодействия между компонентами мембран эритроцитов (фосфолипидами, эфирами холестерина, триглицеридами), усиливая процессы перекисного окисления. Такие эритроциты не способны эффективно выполнять функцию переноса кислорода. В итоге снижается содержание эритроцитов в русле крови. Организм, включая компенсаторные механизмы, корректирует содержание эритроцитов на периферии активацией красного ростка крови.

Как же связаны наблюдаемые изменения характеристик эритроцитов с этиологией процесса в печени? Известно, что этанол активрует процессы *перекисного окисления липидов* (ПОЛ) в мембране, вследствие чего наблюдается уменьшение цис-двойных связей в жирнокислотных остатках фосфолипидов эритроцитарной мембраны [8, 9, 14, 15]. В результате увеличивается число упорядоченных участков. По-видимому, свой вклад в степень упорядоченности мембран вносят изменения белковых компонентов [10]. В связи с этим

альтернативная гипотеза утверждает, что этанол влияет на встроенные в липиды белки, а изменения липидов носят вторичный характер [8, 12]. Эти структурные изменения мембран эритроцитов приводят к сдвигам их электрических, вязкоупругих характеристик при патологии печени алкогольного генеза.

С другой стороны, рассматривая вирусный генез процесса, следует иметь в виду, что в патогенезе хронических вирусных гепатитов важная роль принадлежит вирус-клеточным взаимодействиям (особенно протеин-протеиновым), их последствиям, которые определяют как течение заболевания, так и его прогноз [1]. Изменения в структуре мембран гепатоцитов, иммунокомпетентных клеток, эритроцитов являются отражением этих процессов и приводят к функциональным нарушениям. Так, особую группу при инфицировании вирусами гепатитов составляет патология системы крови: иммунные цитопении, периферическая панцитопения, аутоиммунная гемолитическая анемия, парциальная клеточная аплазия и др., особенностью которых является выраженная склонность клеток к агрегации и деструкции [3].

Образовывать агрегаты могут лишь эритроциты со сниженным поверхностным зарядом. Это означает, что на поверхности клеток должен быть снижен уровень сиаловых кислот, которые более чем на 60% определяют поверхностный заряд эритроцитов. Указанное снижение может быть как абсолютным (например, алкоголь резко снижает количество сиаловых кислот, а вирусы обладают нейроаминидазной активностью), так и относительным (экранирование сиаловых кислот крупномолекулярными белками, которые адсорбируются на поверхности эритроцитов из плазмы — глобулины, фибрин, фибриноген и др.). Поскольку на поверхности эритроцитарной мембраны могут адсорбироваться продукты

метаболизма, иммунные комплексы, удаление таких клеток из русла крови позволяет рассматривать эритроциты как неспецифические клетки иммунной системы [2, 6]. Подобные процессы происходят при диффузной патологии печени и усиливаются по мере утяжеления заболевания. Косвенным отражением снижения электрического заряда эритроцитов является снижение скорости движения клеток к электродам при исследовании методом ДЭФ.

Биохимическая активность диффузных заболеваний печени, отражающая степень нарушения синтетической, обезвреживающей функций печени, активность гуморального звена иммунитета, выраженность синдрома холестаза, напрямую связана с уровнем крупномолекулярных белков, иммуноглобулинов, аммиака, фенолов, аминокислот, холестерина, аминотрансфераз. Эти соединения в разной степени модифицируют мембраны эритроцитов, изменяя их состав, и как следствие электрические характеристики. Резистентность клеток снижается, приводя к избыточному гемолизу даже в условиях минимального стресса. Гемолизат эритроцитов обладает прокоагулянтными свойствами, способствуя развитию вторичной гиперкоагуляции благодаря рефлекторному выбросу в кровь тканевого тромбопластина. Появление в циркулирующей крови лизированных эритроцитов сопровождается выделением эндогенных аминов, выраженной активацией кининовой системы [2, 3], что, в свою очередь, приводит к повышению биохимической активности процесса.

Уменьшение толщины мембраны эритроцита при ДПП (обусловленное снижением количества сиаловых кислот) объясняет значительное увеличение емкости мембраны клеток, электропроводности, особенно у пациентов с ЦП. Это является причиной существенного смещения равновесной частоты в высокочастотный диапазон при утяжелении процесса.

На основании данных исследования липидного и фосфолипидного состава мембран эритроцитов можно предположить, что один из основных механизмов снижения количества эритроцитов у больных с ДПП связан с повышенным гемолизом клеток в результате нарушения структуры мембран и метаболизма клеток красной крови (возникающих на их фоне изменений поверхностной архитектоники и формы эритроцитов), а также с поступлением в кровоток функционально и качественно неполноценных клеток [6, 8] из костного мозга (рис. 2).

Особый интерес представляют выявленные корреляции величин электропроводности с уровнем холестерина в фракции в мембранах эритроцитов и со значением индекса холестерин/фосфолипиды, поскольку они весьма перспективны для оценки эффективности проводимой терапии холестеринснижающими средствами, а также пре-

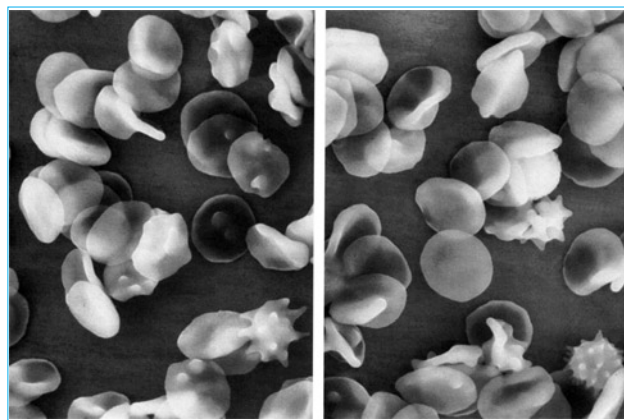


Рис. 2. Деформированные эритроциты у пациентов с диффузными заболеваниями печени. Сканирующая электронная микроскопия (×3500)

паратами, содержащими эссенциальные фосфолипиды.

Увеличение относительного содержания лизофракций фосфолипидов (лизофосфатидилхолина), вероятно, связано с усилением процессов ПОЛ при ДПП [1, 7, 10, 11]. Избыточное накопление лизофракций в мембранах эритроцитов является одной из причин снижения АТФ-азной активности. Наряду с изменением активности мембраносвязанных ферментов, повышенное содержание лизофосфатидилхолина вызывает деформацию клеток, в том числе эритроцитов [3, 6]. Цитолитический эффект лизофосфолипидов обусловлен сочетанием действия их как поверхностно-активных веществ и ионофоров, вызывающих структурные перестройки липидного компонента и белков в мембранах клеток [13]. Возможно, одной из причин повышения индекса деструкции при ДПП является увеличение количества лизофракций фосфолипидов, что подтверждается прямыми корреляциями индекса деструкции при 10^6 Гц и уровня лизофосфатидилхолина в мембранах эритроцитов, полученными в нашей работе. Возрастание содержания в мембранах клеток лизофракций фосфолипидов может быть связано либо с повышением гидролиза соответствующих фосфолипидов, либо со снижением активности лизофосфолипазы [2, 6].

Выводы

Количество эритроцитов, уровень гемоглобина, величина цветового показателя, содержание ретикулоцитов достоверно ниже у пациентов с диффузной патологией печени по сравнению с группой контроля, причем показатели снижались от стадии гепатита к стадии цирроза.

Электрическая проводимость мембраны, индексы агрегации, деструкции, емкость мембран эритроцитов выше, а скорость движения клеток к электродам ниже у больных с ДПП по сравне-

нию с контролем. Отклонения этих параметров нарастали по мере утяжеления заболевания, как и смещение равновесной частоты в высокочастотный диапазон.

Изменение электрических свойств эритроцитов тесно связано с изменениями липидного состава мембран эритроцитов. При диффузных заболеваниях печени по сравнению с контролем увеличивалось относительное содержание фракции ХС на фоне снижения уровня общих липидов и относительного содержания фосфолипидов, триглицеридов и эфиров холестерина. Соотношения холестерин/фосфолипиды возрастали за счет

снижения уровня общих фосфолипидов при увеличении относительного содержания лизофракций фосфолипидов и повышения индекса деструкции эритроцитов.

Полученные корреляции электрических характеристик эритроцитов и уровней структурных компонентов мембран позволяют использовать показатели электропроводности, емкости мембран, индексов деструкции, агрегации, скорости движения клеток к электродам, положение равновесной частоты для косвенного суждения о состоянии мембран эритроцитов.

Список литературы

1. Болезни печени и желчевыводящих путей / Под ред. В.Т. Ивашкина. — М.: Медицина, 2005. — 536 с.
2. Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции. — М.: Мир, 1997. — 624 с.
3. Исследование системы крови в клинической практике / Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. — М.: Триада-Х, 1997. — 480 с.
4. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов: Пер. с англ. — М.: Мир, 1975. — С. 270–271.
5. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 387 с.
6. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. — Томск: Изд-во ТГУ, 2004. — 202 с.
7. Подымова С.Д. Болезни печени. — М.: Медицина, 1993. — 544 с.
8. Сторожок С.А., Панченко Л.Ф., Филиппович Ю.Д., Глушков В.С. Изменения физико-химических свойств биологических мембран при развитии толерантности к этанолу // Вопр. мед. химии. — 2001. — № 2. — С. 42–51.
9. Bouneva I., Abou-Assi S., Heuman D.M., Mihas A.A. Alcoholic liver disease // Hosp. Physician. — 2003. — N 10. — P. 31–38.
10. Delaunay J. Molecular basis of red cell membrane disorders // Acta Haematol. — 2002. — Vol. 108, N 4. — P. 210–218.
11. Hanss M., Koutsourils D. The role of lipids in erythrocyte rheology // Colloid Surfaces. — 1985. — Vol. 14, N 3–4. — P. 261–268.
12. Menon K.V.N., Gores J., Shah V.H. Pathogenesis, diagnosis, and treatment of alcoholic liver disease // Mayo Clin. Proc. — 2001. — Vol. 76. — P. 1021–1029.
13. Ohvo-Rekila H., Ramstedt B., Leppimäki P., Slotte J.P. Cholesterol interactions with phospholipids in membranes // Prog. Lipid Res. — 2002. — Vol. 41, N 1. — P. 457–468.
14. Shiraishi K., Matsuzaki S., Itakura M., Ishida H. Abnormality in membrane fatty acid compositions of cells measured on erythrocyte in alcoholic liver disease // Alcohol. Clin. Exp. Res. — 1996. — Vol. 20, N 1. — P. 56–59.
15. Walsh K., Graeme A. Alcoholic liver disease // Postgrad. Med. J. — 2000. — Vol. 76. — P. 280–286.