

Таким образом, у больных ОП выявлены изменения представительности в белковом и липидном спектре мембран эритроцитов, более выраженные и отличные по некоторым параметрам у пациентов с ОНБП по сравнению с больными с ОБП, при этом у пациентов с ОБП эффективность традиционной комплексной терапии в коррекции структурно-функциональных свойств мембраны эритроцитов гораздо выше, чем у пациентов с небиллиарной формой панкреатита.

Острый панкреатит сопровождается повышенным «уклонением» ферментов из поджелудочной железы в кровь и снижением активности основного ингибитора сериновых протеиназ α_1 -антитрипсина. Вследствие этого сыворотка крови становится токсичной для форменных элементов крови, в том числе эритроцитов. Другой возможной причиной повреждения эритроцитов может быть интенсификация свободнорадикальных процессов, связанная с генерацией нейтрофильными лейкоцитами в очагах воспаления активных форм кислорода и со снижением активности антиоксидантной защиты эритроцитов, результатом чего является возрастание их чувствительности к перекисным процессам [4]. Все это вызывает перестройку мембран красных клеток крови за счет изменения представительности белков и липидов, что, в свою очередь, влияет на сорбционные и иммунотропные свойства эритроцитов в условиях системной воспалительной реакции, играющей первостепенную роль в патогенезе острого панкреатита.

Исходя из этого, в условиях ОБП и ОНБП показано использование препаратов, корригирующих метаболические процессы в эритроцитах и клетках поврежденных тканей и таким образом препятствующих накоплению в крови «агрессивных» соединений – антиоксидантов и мембранопротекторов, при этом нельзя забывать о необходимости использования при данной патологии препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием.

В связи с этим нами в качестве схемы коррекции были выбраны следующие препараты – «Ферровир», «Мексидол» и «Фосфоглив». Использование данной комбинации дополнительно к традиционной фармакотерапии позволило у больных ОБП нормализовать представительность в мембране эритроцитов паллидина, актина и тропомиозина, что тем самым нормализовало общую сорбционную их способность, кроме этого у данной категории больных при использовании схемы «Ферровир» + «Мексидол» + «Фосфоглив» нормализуется уровень фосфатидилхолина (рис. 1).

У пациентов с ОНБП применение «Ферровира», «Мексидола» и «Фосфоглива» позволило нормализовать в мембране красных клеток крови

количество паллидина, белка полосы 4.5, актина, тропомиозина, эфиров холестерина, моно- и диглицеридов, что также нормализовало ССЭ (рис. 1).

Таким образом, использование иммуномодулятора – «Ферровира», антиоксиданта – «Мексидола» и мембранопротектора – «Фосфоглива» у больных ОП оказывает выраженное корригирующее влияние на белковый и липидный спектр в эритроцитарной мембране по сравнению с традиционной фармакотерапией, что способствует оптимизации комплексного лечения данной патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Банкова В.В., Прищепова Н.Ф., Авратинский О.И. Способ оценки патологических изменений плазматической мембраны у детей при различных заболеваниях // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 1987. – № 3. – С.78-81.
2. Будаков С.В., Конопля Н.А., Конопля А.И., Гаврилюк В.П. Структурно-функциональные свойства эритроцитов у больных верхнечелюстным синуситом // Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2010. – № 3 – С.64-70.
3. Гаврилюк В.П., Конопля А.И., Костин С.В. Структурно-функциональные свойства эритроцитов в условиях интраабдоминальной инфекции у детей // Детская хирургия. – 2010. – № 4. – С.38-40.
4. Гаврилюк В.П., Назаренко П.М., Конопля А.И. Структурно-функциональные нарушения эритроцитов и их коррекция у больных с легким и тяжелым течением острого панкреатита // Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – Курск, 2007. – № 3. – С. 29-37.
5. Гальперин Э.И., Дюжева Т.Г., Докучаев К.В. и др. Диагностика и хирургическое лечение панкреонекроза // Хирургия. журнал им. Н.И. Пирогова. – 2003. – № 3. – С. 23-28.
6. Григорьева Т.И. Роль липидмодифицирующегося компонента биомембран в противопанкреатическом эффекте препаратов метаболического типа действия // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2008. – № 4. – С. 103-107.
7. Конопля А.И. Взаимосвязь структуры и функции эритроцитов с иммунным гомеостазом. – Курск: КГМУ, 2008. – 40 с.
8. Конопля А.А., Караулов А.В., Газазян М.Г. Изменение физико-химических свойств эритроцитов у больных хроническим сальпингоофоритом // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2010. – Т. 9, №2. – С.388-391.
9. Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Ефремова С.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Лаб. дело. – 1984. – № 4. – 205-206.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 243 с.
11. Лузганов Ю.В., Островская Н.Е., Шкиря К.С., Ягубова В.А. Дифференциальная диагностика и принципы терапии различных форм панкреатита и пан-

- креонекроза // Русский медицинский журнал. – 2005. – Т. 13, № 27. – С. 1842-1846.
12. *Рязанцева Н.В., Новицкий В.В.* Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 53-65.
13. *Семко Г.А.* Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 113-118.
14. *Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В.* Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.
15. *Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г.* Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, № 6. – С. 587-602.
16. *Ярош А.Л., Конопля А.И., Долгарева С.А. Локтионов А.Л.* Коррекция нарушений структурно-функциональных свойств эритроцитов и иммунного статуса у больных острым билиарным панкреатитом // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2010. – Т.9, № 4. – С. 847-851.
17. *Beutler E.* How do red cell enzymes age a new perspective // Brit. J. Haemat. – 1985. – Vol. 61. – P. 377-384.
18. *Dodge G.T., Mitchell C., Hanahan D.J.* The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – Vol. 100. – P. 119-130.
19. *Fairbanks G., Steck T.* Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane // Biochemistry. – 1971. – Vol. 10. – P. 2606-2616.
20. *Laemli U.K.* Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – V. 227. – P. 680.

ИММУННЫЕ И ОКСИДАНТНЫЕ НАРУШЕНИЯ И ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ

© Мансимова О.В., Гаврилюк Е.В., Михин В.П., Конопля Е.Н.

Кафедра пропедевтики внутренних болезней, кафедра внутренних болезней № 2
Курского государственного медицинского университета, Курск

E-mail: ganneta@list.ru

На базе МУЗ «Городская больница скорой медицинской помощи» г. Курска у больных острым инфарктом миокарда установлены изменения иммунного и оксидантного статусов и структурно-функциональных свойств эритроцитов. Для показателей функционально-метаболической активности нейтрофилов, перекисного окисления липидов, цитокинового статуса, сорбционных свойств эритроцитов выявлено наибольшее количество взаимосвязей с клинико-инструментальными показателями, что свидетельствует о важности их в прогрессировании сердечной недостаточности у больных, перенесших инфаркт миокарда. Таким образом, нельзя исключить важную роль эритроцитов в поддержании иммунного гомеостаза в условиях инфаркта миокарда, кроме этого в реализации иммуномодулирующих эффектов фармакологических схем у таких больных, что необходимо учитывать при комплексном лечении больных с данной патологией.

Ключевые слова: инфаркт миокарда, мембрана эритроцитов, иммунитет.

IMMUNE AND OXYGEN DISTURBANCES AND CHANGES OF STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES IN PATIENTS WITH THE ACUTE CORONARY SYNDROME

Mansimova O.V., Gavriluk E.V., Mikhin V.P., Konoplya E.N.

Department of Propaedeutic of Internal Diseases, Department of Internal Diseases N 2
of the Kursk State Medical University, Kursk

On the basis of the Kursk city emergency hospital the patients with myocardial infarction were observed the changes in the immune and oxygen statuses and structural and functional properties of erythrocytes. To indicate the functional and metabolic activity of neutrophils, lipid peroxidation, cytokine status, sorption properties of erythrocytes the greatest quantity of interrelations with clinical and tool indicators was revealed. It testifies to their importance in the development of heart failure in patients with myocardial infarction. Thus, erythrocytes play an important role in maintenance of an immune homeostasis in the conditions of myocardial infarction, in realization of the immunomodulating effects of the pharmacological schemes. It must be taken into account in complex treatment of patients with the pathology given.

Keywords: myocardial infarction, membrane of erythrocytes, immunity.

Одним из основных патофизиологических механизмов ишемической болезни сердца является нарушение равновесия между уровнем коронарного кровотока и потребностью миокарда в кислороде вследствие атеросклеротического процесса в коронарных артериях [14]. Дефицит энергии и различные электрофизиологические, сосудистые, гемодинамические эффекты приводят к еще большей нейрогуморальной активации, активации цитокинов, развитию иммунного воспаления, нарушению фибринолиза и еще большему повреждению миоцитов и межклеточного вещества. Итогом этих сложных изменений является ремоделирование левого желудочка с дальнейшим прогрессированием систолической и диастолической дисфункции [4].

Одним из важных механизмов усугубления повреждения кардиомиоцита служит активация иммунологических реакций в зонах хронической ишемии и реперфузии. Это проявляется избыточной миграцией макрофагов в эти зоны, запуск

неспецифических воспалительных реакций (экссудацию, пролиферацию, лейкоцитарную инфильтрацию), что способствует дальнейшему нарушению структурной целостности клеток миокарда [14]. Усиление процессов свободнорадикального окисления липидов в клеточных мембранах приводит к уплотнению либо деструкции липидного бислоя, увеличению его вязкости, уменьшению площади белок-липидных контактов, нарушению функциональной активности белков, в том числе ферментов, изменению мембранной проницаемости и поверхностного заряда, нарушению функционального состояния мембранно-рецепторного комплекса, свободнорадикальное окисление липидных и белковых молекул играет роль триггерного механизма, обеспечивающего доступность липидно-белковых компонентов мембраны клеток соответственно для фосфолипаз и протеаз.

Аналогичные изменения касаются и мембраны клеток тканей, подвергнутых данным воздей-

ствиям вне очага некроза, при этом в крови резко повышается концентрация метаболитов, обладающих иммуносупрессорным эффектом: продуктов ПОЛ, ацилгидроперекисей, диеновых конъюгатов жирных кислот, малонового диальдегида, аномальных метаболитов липидного обмена (окислительно-модифицированных холестерина, липопротеидов низкой и очень низкой плотности), гликозаминогликанов (высокомолекулярных фрагментов гиалуроновой и хондроитинсерной кислот), которые опосредованно через красные клетки крови, влияющие на функцию иммунокомпетентных клеток, оказывают воздействие на иммунное воспаление [11].

Актуальным в настоящее время является выявление механизмов патогенеза развития иммунного воспаления в условиях инфаркта миокарда для разработки фармакологических способов воздействия на ключевые звенья [8, 12]. В связи с этим, целью исследования явилось изучение характера и выраженности изменений иммунного и оксидантного статусов и структурно-функциональных свойств эритроцитов у больных, перенесших первичный острый инфаркт миокарда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под постоянным наблюдением на базах МУЗ «Городская больница скорой медицинской помощи» и НУЗ «Отделенческая больница на станции Курск» ОАО РЖД г. Курска находилось 67 больных с диагнозом: первичный острый инфаркт миокарда (ОИМ) левого желудочка. Диагноз ОИМ верифицировался на основании характерной клинической картины, лабораторных и ЭКГ данных.

Критериями включения больных в исследование: возраст 40–60 лет; лица, перенесшие первичный ОИМ; получающие стандартную однотипную традиционную терапию, включающую нитраты (нитроглицерин, нитросорбид), β -адреноблокаторы (атенолол), ингибиторы АПФ (эналаприл), антиагреганты (аспирин) и антикоагулянты (гепарин); информированное согласие больного на участие в исследовании. Из исследования исключались больные с рецидивирующим пролонгированным течением ОИМ; острой аневризмой левого желудочка; тромбоэмболией различных органов; врожденными и приобретенными пороками сердца; нарушением ритма сердечной деятельности и проводимости высоких градаций (атриовентрикулярной блокадой II–III степени, фибрилляцией предсердий); сопутствующими хроническими заболеваниями в стадии обострения или декомпенсации; сахарным диабе-

том; ожирением III степени; индивидуальной непереносимостью препаратов; отказавшиеся от участия в данном исследовании. Группа контроля состояла из 26 здоровых доноров-добровольцев того же возраста.

Лабораторные методы исследования крови проводились при поступлении и на 21-е сутки нахождения в стационаре. При оценке гемограмм за основу брались физиологические нормы, соответствующие международной системе единиц (СИ) в клинических исследованиях [10].

В работе фенотип лимфоцитов определялся методом иммунофлюоресцентного анализа с помощью моноклональных антител (ООО «Сорбент», г. Москва) к структурам CD3 (общие Т-лимфоциты), CD4 (Т-хелперы), CD8 (цитотоксические клетки), CD16 (NK-клетки), CD22 (В-лимфоциты) [8]. Содержание C3, C4, C5, определяли в плазме крови методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, используя диагностический набор ООО НПЦ «Медицинская иммунология» (г. Москва). Количественная оценка уровней ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-4, ИЛ-10 проводилась с помощью тест-систем (ООО «Цитокин», г. Санкт-Петербург) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Активность и интенсивность фагоцитоза нейтрофилов периферической крови оценивали по фагоцитарному индексу (ФИ) и фагоцитарному числу (ФЧ). Активность кислородзависимых систем нейтрофилов оценивали по реакции восстановления нитросинего тетразолия спонтанного (НСТ-сп.) и стимулированного зимозаном (НСТ-ст.) [2, 9, 13]. Выраженность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в крови малонового диальдегида (МДА) и ацилгидроперекисей (АГП) [1, 3]. Кроме этого, определяли активность каталазы [6].

Эритроциты получали из 5 мл гепаринизированной крови по методу E. Beutler [18]. Определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) [16] и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [15]. О функциональном состоянии эритроцитов судили также по накоплению малонового диальдегида (МДА) [17]. Мембраны эритроцитов получали методом G.T. Dodge [19]. Электрофорез проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli [21]. Белки окрашивали кумаси голубым R-250 по модифицированной методике G. Fairbanks [20].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы: критерии Вилкоксона-Манна и Уитни, Крускала-Уоллиса, Фридмана и непараметрический вариант критерия Ньюмена-Кейлса [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На момент поступления у больных ОИМ установлено повышение в крови количества общих Т-лимфоцитов, Т-хелперов, NK-клеток, концентрации провоспалительных (ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8) и противовоспалительных (ИЛ-4 и ИЛ-10) цитокинов, продуктов ПОЛ (АГП и МДА) при неизменной активности каталазы, снижение представительства CD8-лимфоцитов, активация системы комплемента по классическому и альтернативному путям (C3, C4, C5-компонентов комплемента), активация функционально-метаболической активности нейтрофилов (табл. 1).

У больных ОИМ при поступлении в мембране эритроцитов снижается количество β -спектрина, подфракции анкирина, повышается содержание белка полосы 4.1, 4.2, дематина, тропомиозина. Кроме этого, повышается общая сорбционная

способность эритроцитов и концентрация в них малонового диальдегида (рис. 1).

Таким образом, исходя из функций интегральных и периферических белков мембраны эритроцитов, можно заключить, что выявленные изменения направлены на уменьшение прочности и деформируемости эритроцитарной мембраны, повышение общей сорбционной способности эритроцитов и их гликолизакса и снижение их метаболической активности, что ускоряет процессы старения красных клеток крови.

Инкубируя интактные эритроциты в течение трех часов при температуре 37,0°C с одногруппной по системе АВО и Rh с сывороткой больных ОИМ выявлены изменения, структурно-функциональных свойств эритроцитов, аналогичные тем, что имеют место у больных ОИМ: снижение количества β -спектрина и повышение содержания дематина, общей сорбционной способности эритроцитов и внутриклеточной концентрации МДА. Это свидетельствует о влиянии сис-

Таблица 1

Показатели иммунитета у больных инфарктом миокарда
на фоне проводимого лечения (M \pm m)

Показатели	Единицы измерений	1	2	3
		Здоровые	Больные ОИМ	
			До лечения	После лечения
CD3	%	58,4 \pm 3,7	50,2 \pm 4,1	51,4 \pm 3,3
	10 ⁹ /л	1,13 \pm 0,02	1,54 \pm 0,03*1	1,57 \pm 0,14*1,3
CD4	%	42,1 \pm 4,2	44,2 \pm 2,8	40,2 \pm 3,3
	10 ⁹ /л	0,81 \pm 0,03	1,35 \pm 0,09*1	1,23 \pm 0,11*1,3
CD8	%	23,1 \pm 1,3	10,1 \pm 0,9*1	13,2 \pm 0,82*1-3
	10 ⁹ /л	0,45 \pm 0,02	0,31 \pm 0,03*1	0,4 \pm 0,02*2
CD22	%	14,8 \pm 2,3	10,2 \pm 2,4	12,6 \pm 2,1
	10 ⁹ /л	0,29 \pm 0,03	0,31 \pm 0,02	0,39 \pm 0,03*1,2
CD16	%	11,6 \pm 1,2	16,1 \pm 1,3*1	15,1 \pm 0,8*1
ФНО α	пг/мл	22,1 \pm 2,2	88,2 \pm 13,0*1	70,4 \pm 7,1*1,3
ИЛ-1 β	пг/мл	5,9 \pm 0,4	21,4 \pm 3,5*1	24,6 \pm 3,3*1
ИЛ-6	пг/мл	70,3 \pm 6,9	211,1 \pm 28,7*1	180,2 \pm 21,2*1
ИЛ-8	пг/мл	51,4 \pm 8,3	256,1 \pm 25,1*1	280,4 \pm 71,2*1
ИЛ-4	пг/мл	17,1 \pm 2,2	45,3 \pm 5,8*1	41,4 \pm 4,7*1
ИЛ-10	пг/мл	29,2 \pm 2,3	188,1 \pm 20,2*1	164,7 \pm 20,5*1
C3	нг/мл	91,4 \pm 9,7	288,3 \pm 24,7*1	264,7 \pm 21,5*1,3
C4	нг/мл	8,1 \pm 0,9	21,8 \pm 2,2*1	22,6 \pm 3,4*1
C5	нг/мл	90,2 \pm 8,8	333,8 \pm 38,5*1	304,6 \pm 31,9*1
ФИ	%	37,3 \pm 4,1	46,1 \pm 3,2*1	42,1 \pm 3,2
ФЧ	абс.	8,2 \pm 0,27	9,1 \pm 0,4*1	9,0 \pm 0,28*1
НСТ-сп.	%	4,7 \pm 0,2	12,2 \pm 0,09*1	11,0 \pm 0,93*1
НСП-ст.	%	21,3 \pm 1,2	31,5 \pm 1,3*1	27,7 \pm 2,4*1
АГП	мкмоль/л	4,1 \pm 0,2	9,5 \pm 0,32*1	6,9 \pm 0,22*1,2
МДА	усл. ед.	0,34 \pm 0,02	0,62 \pm 0,04*1	0,47 \pm 0,03*1,2
Каталаза	кат/л	94,4 \pm 6,5	102,3 \pm 12,41	128,3 \pm 11,5*1

Примечание: звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p < 0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы эти различия.

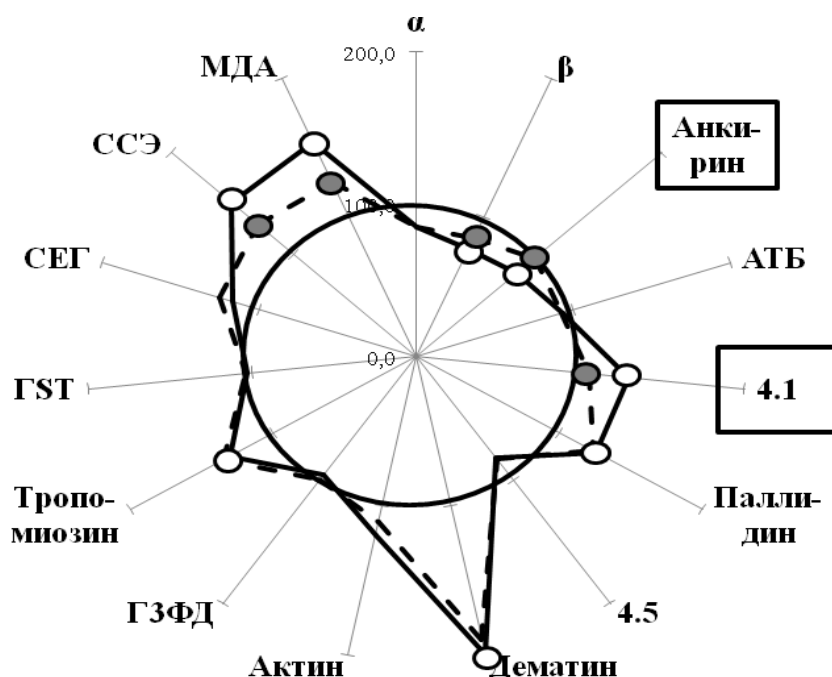


Рис. 1. Структурно-функциональные свойства эритроцитов у больных ОИМ на фоне проводимого лечения.

Примечание: 1 – радиус окружности – значение показателей у здоровых доноров (1 группа); 2 – ———— – значения показателей у больных ОИМ до лечения (2 группа); 3 – ———— – значения показателей у больных ОИМ после традиционного лечения (3 группа); 4 – ○ – $p < 0,05$ по отношению к 1 группе; 5 – □ – $p < 0,05$ по отношению к 2 группе; 6 – △ – $p > 0,05$ по отношению к 1 группе.

темных метаболических нарушений, возникающих в условиях острого коронарного синдрома, на архитектуру плазматической мембраны красных клеток крови.

Традиционное комплексное лечение к 21-м суткам частично нормализовало количество CD8-лимфоцитов, снизило, но не до уровня нормы, концентрации ФНО α , ИЛ-6, ИЛ-4, С5, МДА и АГП и повысило концентрации ИЛ-10, ИЛ-8, значения ФИ, ФЧ и НСТ-сп. и активность каталазы (табл. 1).

Традиционное комплексное лечение нормализует представительство в мембране эритроцитов подфракции анкирина и белка полосы 4.1 и корригирует количество β -спектрина, общую сорбционную способность эритроцитов и концентрацию в них малонового диальдегида (рис. 1).

При анализе матрицы множественной корреляции с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена были установлены достоверные положительные и отрицательные взаимосвязи (в абсолютных числах и в процентах от возможного числа корреляционных связей) (табл. 2).

Установлено наибольшее количество взаимосвязей для показателей ФМА нейтрофилов ($|r|=0,82\pm0,11$), ПОЛ ($|r|=0,78\pm0,10$) и цитокиново-

го статуса ($|r|=0,71\pm0,09$), что свидетельствует о важности данных звеньев иммунного и оксидантного статусов в прогрессировании сердечной недостаточности у больных, перенесших ИМ. При этом легко заметить, что данные звенья иммунного статуса и состояния ПОЛ оказывают большее влияние на диастолическую функцию ЛЖ и физическую толерантность, нежели на систолическую функцию ЛЖ.

Оценивая показатели иммунного, оксидантного статусов и структурно-функциональных свойств эритроцитов, динамика которых на фоне проводимого лечения коррелирует с показателями внутрисердечной гемодинамики и физической толерантности у больных ИМ, выявлены были наиболее достоверные, к которым относятся показатели ФМА нейтрофилов (ФИ – $|r|=0,88\pm0,09$, ФЧ – $|r|=0,79\pm0,10$, НСТ-сп. – $|r|=0,81\pm0,13$, НСТ-ст. – $|r|=0,77\pm0,13$), концентрация РАИЛ ($|r|=0,76\pm0,12$), ФНО α ($|r|=0,74\pm0,10$), содержание в мембране эритроцитов дематина ($|r|=0,72\pm0,20$) и общая их сорбционная способность ($|r|=0,77\pm0,12$). Кроме того, проведенный статистический анализ выявил, что именно эти показатели являются наиболее информативными, позволяющими объективно оценить течение постинфарктного периода реабилитации и восстановле-