

ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ФОСФОЛИПИДОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПЕЧЕНИ: ДИНАМИКА ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И ВЯЗКОУПРУГИХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ

Курилович С. А.¹, Кручинина М. В.¹, Громов А. А.¹, Генералов В. М.², Бакиров Т. С.², Рухтер В. А.³, Семенов Д. В.¹

¹ НИИ терапии Сибирского отделения РАМН

² Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Курилович Светлана Арсентьевна
 630089, Новосибирск, ул. Богаткова, д. 175/1
 Тел.: 8 (383) 200 0702
 E-mail: kurilovich@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Обследовано 38 мужчин (36–57 лет) с диффузной патологией печени (ДПП) различного генеза в стадии гепатита, 27 — в динамике лечения эссенциальными фосфолипидами. Установлено: показатели вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов, изученные методами диэлектрофореза, при ДПП коррелируют с липидным и фосфолипидным составом мембран эритроцитов (изученным с помощью тонкослойной хроматографии). Низкий уровень фосфолипидов в мембранах эритроцитов и направление изменений их фракционного состава при ДПП является основанием для применения эссенциальных фосфолипидов (ЭФЛ). На фоне курсовой терапии ЭФЛ отмечено достоверное увеличение показателей пластичности, поляризуемости, емкости, скорости движения эритроцитов к электродам и снижение уровней обобщенных показателей вязкости, жесткости, электропроводности, индексов агрегации и деструкции, что может отражать улучшение функционального состояния мембран гепатоцитов и служить патогенетическим обоснованием применения ЭФЛ.

Ключевые слова: диффузная патология печени; эссенциальные фосфолипиды; эритроциты; электрические, вязкоупругие параметры.

SUMMARY

Under supervision there were 38 men (age from 36 till 57 years) with diffuse hepatic diseases (DHD) in stadia of hepatitis, 27 — in dynamics of treatment of essential phospholipids. Is experimentally established: structure-functional erythrocyte characteristics by methods of di electrophoresis, thin-layer chromatography correlate with lipid and phospholipid composition of red cell membranes. The low level of phospholipids in erythrocyte membranes and direction of changes in their fractional composition in the DHD is the basis for the use of essential phospholipids. Against the background of therapy noted a significant increase in amplitude of deformation, polarizability, capacity, speed of movement of red blood cells to the electrodes and lower levels of generalized indicators of viscosity, rigidity, electrical conductivity, index of aggregation and destruction.

Keywords: diffuse hepatic diseases; essential phospholipids; erythrocyte.

Известно, что фосфолипиды, составляющие существенную часть всех мембранных систем и органелл, играют основную роль в процессах трансмембранного обмена, детоксикации, а также регенерации клеток [1]. Диффузная патология печени, независимо от этиологии процесса,

сопровождается повреждением мембран гепатоцитов и органелл, повышением их порозности, нарушением текучести, что в большой степени связано с потерей фосфолипидов. Известно также, что молекулы полиненасыщенного фосфатидилхолина, обладая высоким энергетическим потенциалом,

в неизменном виде встраиваются в мембраны гепатоцитов, избавляя таким образом печень от необходимости затрачивать большое количество энергии на формирование структурных и функциональных элементов мембранных систем [2].

Во многих исследованиях показано воздействие полиненасыщенных эссенциальных фосфолипидов (ЭФЛ) на гепатоциты [3–5]. Позитивное влияние ЭФЛ на мембраны гепатоцитов при отсутствии морфологических данных обычно основывается на косвенном показателе — уменьшении синдрома цитолиза (прежде всего активности АЛТ). В то же время известно, что состояние мембран хорошо доступных для изучения клеток крови — эритроцитов отражает состояние и других клеточных мембран организма. Ранее нами получены данные о корреляциях электрических и вязкоупругих свойств эритроцитов с функциональным состоянием печени при ее диффузных заболеваниях [6] и с изменениями липидного состава их мембран. Однако в связи с широким использованием эссенциальных фосфолипидов дополнительный интерес вызывает состав фосфолипидных фракций мембран эритроцитов как при патологии печени в общем, так и в процессе лечения. Возможные позитивные изменения ряда эритроцитарных параметров в процессе заместительной терапии ЭФЛ могут послужить дополнительным патогенетическим обоснованием их использования в определенных клинических ситуациях. Клинические исследования на эту тему единичны и отражают только отдельные фрагменты проблемы.

Целью настоящего исследования явилось изучение фракционного состава фосфолипидной фракции мембран эритроцитов и динамики электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов при диффузной патологии печени (ДПП) на фоне фосфолипидзамещающей терапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Фракционный состав фосфолипидов мембран эритроцитов изучен у 38 пациентов (возраст от 36 до 57 лет) с хроническим гепатитом вирусного, алкогольного и смешанного генеза. Вирусный гепатит наблюдался у 22 человек (HCV — 7, HBV — 15), при этом у 12 хроническая вирусная инфекция протекала на фоне длительного злоупотребления алкоголем. Вирусная этиология болезни устанавливалась на основании обнаружения серологических маркеров и (или) ДНК и РНК вирусов. Алкогольный генез болезни установлен у 12 человек (отрицательные результаты ИФА сывороточных маркеров вирусных гепатитов и достоверное подтверждение систематического потребления алкоголя по данным стандартного опроса, в том числе с помощью CAGE-опросника). Минимальная активность процесса отмечена у 12 человек, умеренная — у 26. Стадия болезни определялась на основании клинических, биохимических и инструментальных исследований, у 5 пациентов выполнена биопсия печени.

Группу сравнения составили практически здоровые мужчины (33 человека) в возрасте от 35 до 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 обследовании не выявлено признаков заболевания печени.

Обследование выполнено с одобрения Комитета биомедицинской этики ГУ НИИ терапии СО РАМН. Все обследуемые заполняли стандартные анкеты: 1) информированное согласие пациента на участие в обследовании; 2) стандартную анкету о частоте и дозах потребляемого алкоголя. У больных с верифицированным диагнозом, а также у мужчин группы сравнения исследовали электрические, вязкоупругие параметры эритроцитов методом диэлектрофореза (ДЭФ) в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП).

У 27 пациентов электрические и вязкоэластические свойства эритроцитов изучены в динамике, на фоне лечения ЭФЛ (Эссенциале форте Н, группа «Санофи-Авентис»). Параметры эритроцитов исследованы параллельно с биохимическими показателями крови: активность АЛТ, АСТ и ГГТП, уровень билирубина, общего холестерина (ХС) и ХС ЛПВП, триглицеридов (ТГ), альбумина и γ -глобулинов.

Для проведения ДЭФ кровь объемом 2 мл забирали вокутайнерами в 3,7%-ный цитратный буфер в соотношении 9:1, через час кровь вносили в 0,3-М раствор сахарозы (рН 7,36) в соотношении 1:20. Измерения параметров 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 5×10^4 – 10^6 Гц. Оценивали электропроводность мембран, индексы агрегации и деструкции эритроцитов, емкость мембран клеток, скорость движения эритроцитов к электродам, положение равновесной частоты, амплитуду деформации эритроцитов, поляризуемость клеток, обобщенные показатели вязкости и жесткости.

Определение фракционного состава фосфолипидов (ФЛ) в эритроцитах проводили методом двумерной тонкослойной хроматографии по методу Э. Шталь (1965) на пластинах Kissellgell Merck F₂₅₄ (Германия) в системе растворителей — хлороформ : метанол : 28%-ный водный аммиак (50 : 35 : 5 мл). При оценке результатов учитывали величину относительной подвижности отдельных фракций ФЛ на пластине. Количественное определение отдельных фракций ФЛ проводили по содержанию неорганического фосфора (Р_n) после сжигания органической части. Для определения Р_n использовали унифицированный метод (В.В. Меньшиков, 1987).



Определение содержания холестерина (ХС) мембран эритроцитов проводили методом Златкиса — Зака [7]. Липиды мембран, полученные трехкратным гемолизом эритроцитов дистиллированной водой, выделяли методом J. Folsh и сотр. [7]. Общее содержание липидов в мембранах эритроцитов определяли по методу W. Bloog в модификации J. Brandon [7]. Спектр нейтральных липидов оценивали методом тонкослойной хроматографии на пластинах *Sorbfil* (Россия) в системе гептан: диэтиловый эфир: этилацетат (80 : 20 : 1,5 мл). Идентификацию фракций липидов проводили с помощью соответствующих стандартов (*Sigma*, США) [7].

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

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов у пациентов с ДПП показало, что клетки красной крови демонстрировали достоверно более низкую пластичность на фоне высоких обобщенных показателей вязкости и жесткости, сниженные поверхностный электрический заряд, емкость мембран, резистентность, приводящие к повышенному гемолизу, и, как следствие, склонность к образованию агрегатов (табл. 1). Сниженные показатели поляризуемости на всех частотах при ДПП отражали достоверное снижение жизнеспособности клеток с нарастанием тканевой гипоксии, которая является фактором, провоцирующим фиброгенез. Равновесная частота у пациентов с диффузной патологией печени оказалась сдвинутой в высокочастотный диапазон (более 5×10^5 Гц). Высокие показатели электропроводности мембран эритроцитов у пациентов с ДПП отражали способность мембран хорошо проводить электрический ток, в то время как у обследуемых группы сравнения мембраны эритроцитов являлись диэлектриками. Это обстоятельство косвенно свидетельствовало о наличии выраженных изменений в структуре мембран эритроцитов, что и послужило основанием для необходимости изучения их липидного и фосфолипидного состава.

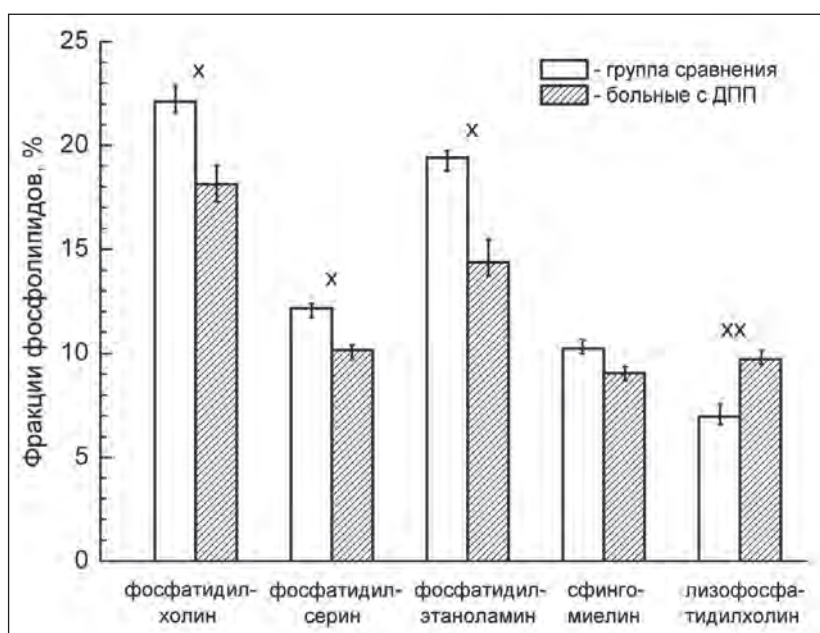
Как было сообщено ранее [6], у больных с диффузной патологией печени было большее относительное содержание холестериновой фракции, соотношения холестерин/фосфолипиды, меньший уровень общих липидов и относительного содержания общих фосфолипидов, триглицеридов и эфиров холестерина по сравнению с аналогичными показателями у лиц контрольной группы. Вероятно,

увеличение относительного содержания холестериновой фракции в мембранах эритроцитов у больных с ДПП происходило за счет снижения абсолютного содержания фракций общих фосфолипидов и триглицеридов. Наряду с содержанием холестерина для поддержания стабильного состояния мембран клеток важную роль играет значение соотношения холестерин/фосфолипиды. Возрастание этого показателя, наблюдаемое у больных с ДПП ($1,41 \pm 0,097$ против $1,12 \pm 0,024$ ммоль/моль в контроле, $p < 0,01$), приводило к повышению вязкости и нарушению проницаемости липидного бислоя, изменению активности мембраносвязанных ферментов, что подтвердили прямые достоверные корреляции этого показателя со значениями обобщенной вязкости эритроцитов ($r = 0,437$, $p < 0,02$), жесткости клеток ($r = 0,513$, $p < 0,033$), электропроводности мембран эритроцитов ($r = 0,411$, $p < 0,048$) и обратная — с амплитудой деформации эритроцитов под действием НПЭП ($r = -0,383$, $p < 0,05$).

Дополнительный анализ показал, что снижение уровня общих фосфолипидов (в г/л) в мембранах клеток красной крови у пациентов с ДПП было вызвано уменьшением содержания фракций фосфатидилхолина, фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина (см. рис.). Вместе с тем в мембранах эритроцитов у больных с ДПП относительное содержание лизофракций фосфолипидов (лизофосфатидилхолина, лизофосфатидилэтаноламина) превышало таковое у лиц группы сравнения, что может быть связано с усилением процессов перекисного окисления липидов при развитии диффузной патологии печени. Наряду с увеличением содержания лизофосфолипидов в мембранах клеток красной крови интенсификация процессов перекисного окисления липидов, вероятно, приводит к снижению уровня фракций легкоокисляемых фосфолипидов (фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозиты), что и получено нами при исследовании мембран эритроцитов у больных с ДПП.

Выявлены корреляции электрических, вязкоупругих характеристик эритроцитов и компонентов фосфолипидного состава их мембран (табл. 2). Уровень фосфатидилхолина прямо, с достаточной силой связи и степенью достоверности коррелировал с амплитудой деформации эритроцитов под действием НПЭП, скоростью движения клеток к электродам (что косвенно отражает величину поверхностного отрицательного заряда эритроцитов), поляризуемостью клеток, показывающую уровень жизнеспособности эритроцитов, и обратно — с обобщенными показателями вязкости, жесткости, индексами агрегации и деструкции.

У 27 пациентов с ДПП исследование электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов наряду со стандартными биохимическими показателями функционального состояния печени было проведено в динамике, до и после 3 месяцев терапии Эссенциале форте Н в дозировке по 2 капсулы 3 раза



Содержание фракций фосфолипидов в мембранах эритроцитов у больных с диффузной патологией печени и лиц группы сравнения ($M \pm m$)
Достоверность различий между группами: x — $p < 0,05$; xx — $p < 0,02$.

в день во время еды. На фоне лечения эссенциальными фосфолипидами позитивные сдвиги произошли во всех стандартных показателях: снизились исходно повышенная активность аминотрансфераз и ГГТП, уровни билирубина (включая конъюгированную фракцию) и γ -глобулинов, повысился уровень альбуминов, улучшились показатели липидного обмена (табл. 3).

Что касается электрических и вязкоупругих свойств эритроцитов, то на фоне лечения отмечено повышение пластичности эритроцитов при снижении обобщенных показателей вязкости и жесткости, нарастание поляризуемости на всех частотах, скорости движения клеток к электродам, снижение склонности эритроцитов к образованию агрегатов и деструкции ($p < 0,01$). Произошло достоверное смещение равновесной частоты в низкочастотный

диапазон (табл. 4). Особенно выраженным оказалось изменение электрической емкости мембран эритроцитов ($p < 0,001$), отражающей степень диспротеинемии при ДПП. Подтверждением этому являются прямые корреляции этого показателя с уровнем альбуминов ($r = 0,511$, $p < 0,044$) и обратные — с уровнем γ -глобулинов ($r = -0,476$, $p < 0,05$). Активность аминотрансминаз прямо коррелировала с уровнем электропроводности ($r = 0,927$, $p < 0,003$ для АЛТ и $r = 0,520$, $p < 0,048$ для АСТ) и обратно — с показателем поляризуемости ($r = -0,908$, $p < 0,005$ для АЛТ и $r = -0,63$, $p < 0,004$ для АСТ).

Положительный эффект Эссенциале (диглицеридного эфира фосфохолина и полиненасыщенных жирных кислот природного происхождения, с превалированием линолевой кислоты) при заболеваниях печени хорошо известен. Исследования

Таблица 1

ВЯЗКОУПРУГИЕ И ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ДИФУЗНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ ПЕЧЕНИ И В ГРУППЕ СРАВНЕНИЯ ($M \pm m$)										
Группа	Амплитуда деформации, м	Обобщенный показатель жесткости, Н/м	Обобщенный показатель вязкости, Па·с	Индекс агрегации E_r , усл. ед.	Индекс деструкции E_r , %	Электропроводность, см/м	Емкость клеточной мембраны, Ф	Скорость движения E_r к электродам, мкм/с	Положение равновесной частоты, Гц	Поляризуемость, $m^3 (10^6 \text{ Гц})$
Группа сравнения, $n = 33$	$2,6 \cdot 10^{-6} \pm 1,1 \times 10^{-7}$	$4,2 \cdot 10^{-6} \pm 6,3 \cdot 10^{-7}$	$0,32 \pm 0,05$	$0,42 \pm 0,011$	$1,09 \pm 0,72$	$2,91 \cdot 10^{-5} \pm 3,0 \cdot 10^{-6}$	$5,18 \cdot 10^{-14} \pm 2,23 \cdot 10^{-15}$	$14,70 \pm 2,34$	$4,65 \cdot 10^5 \pm 4,63 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^{-15} \pm 4,21 \cdot 10^{-16}$
Группа с ДПП, $n = 38$	$0,58 \cdot 10^{-6} \pm 0,9 \cdot 10^{-7}$	$(9,12 \pm 2,4) \cdot 10^{-6}$	$0,71 \pm 0,09$	$0,80 \pm 0,09$	$5,44 \pm 0,81$	$7,92 \cdot 10^{-5} \pm 8,1 \cdot 10^{-6}$	$3,72 \cdot 10^{-14} \pm 3,17 \cdot 10^{-15}$	$4,76 \pm 3,64$	$6,93 \cdot 10^5 \pm 3,11 \cdot 10^6$	$0,54 \cdot 10^{-15} \pm 5,1 \cdot 10^{-17}$
$p <$	0,0001	0,0001	0,001	0,001	0,01	0,001	0,001	0,05	0,001	0,02

на животных показали, что полиненасыщенный фосфатидилхолин (ПФХ) встраивается в мембрану гепатоцитов как в норме, так и при гепатите, вызванном галактозамином [8]. В результате ПФХ замещает эндогенный насыщенный фосфатидилхолин мембран, что приводит к существенному повышению текучести мембран и стимуляции деятельности систем активного транспорта [9]. В других исследованиях на животных было показано, что ПФХ снижает чувствительность гепатоцитов к цитотоксическим воздействиям [9; 10].

Однако влияние этого лекарственного средства на состояние клеток красной крови недостаточно изучено. Фосфолипиды, богатые эссенциальными

жирными кислотами, имеют высокую биодоступность. Более 50% полиненасыщенного фосфатидилхолина, принятого внутрь, становится биологически доступным для организма либо вследствие прямой абсорбции, либо реацилирования абсорбированного лизофосфатидилхолина [1; 4; 9]. Фармакокинетические исследования у человека с использованием $^4\text{H}/^{14}\text{C}$ -меченого фосфатидилхолина показали, что абсорбция превышает 90% [9]. Аналогичные исследования были выполнены на животных [3]. Фосфатидилхолин пищи расщепляется панкреатической фосфолипазой А2 [1] на 1-лизо-фосфатидил-холин и жирные кислоты, которые абсорбируются в тощей кишке [1]. В русле

Таблица 2

КОРРЕЛЯЦИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ, ВЯЗКОУПРУГИХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ С КОМПОНЕНТАМИ ФОСФОЛИПИДНОГО СОСТАВА ИХ МЕМБРАН				
Вязкоупругие параметры	Компоненты липидного состава мембран			
	фракция общих фосфолипидов, %	фосфатидилхолин, %	фосфатидилсерин, %	лизофосфатидилхолин, %
Емкость клеточной мембраны, Ф	-0,62 (0,033)	—	—	—
Индекс деструкции эритроцитов, %	—	-0,57 (0,042)	+0,48 (0,03)	+0,51 (0,043)
Индекс агрегации эритроцитов, усл. ед.	—	-0,48 (0,05)	+0,31 (0,05)	+0,49 (0,05)
Скорость движения эритроцитов к электродам, мкм/с	—	+0,44 (0,02)	—	—
Амплитуда деформации, м	+0,64 (0,05)	+0,52 (0,033)	—	—
Обобщенный показатель вязкости, Па × с	-0,57 (0,026)	-0,43 (0,02)	—	—
Обобщенный показатель жесткости, Н/м	-0,34 (0,05)	-0,49 (0,037)	—	—
Поляризуемость, м ³ , при 106 Гц	—	+0,67 (0,048)	-0,31 (0,03)	-0,34 (0,05)

Примечание: в скобках — показатель достоверности данного коэффициента корреляции.

Таблица 3

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ЭССЕНЦИАЛЬНЫМИ ФОСФОЛИПИДАМИ					
Группы обследованных	Биохимические параметры				
	общий билирубин (ммоль/л)	прямой билирубин (ммоль/л)	АЛТ(у/л)	АСТ(у/л)	ГГТП(у/л)
До лечения	38,67 ± 2,50	11,87 ± 1,80	67,45 ± 5,04	56,34 ± 3,36	70,56 ± 5,13
После лечения	26,24 ± 3,12	6,52 ± 1,97	41,19 ± 4,63	40,11 ± 4,80	52,69 ± 4,73
p <	0,002	0,05	0,001	0,01	0,01
Группы обследованных	Общий холестерин (мг/дл)	Холестерин ЛПВП(мг/дл)	Триглицериды (мг/дл)	Альбумины (г/л)	Гамма-глобулины(%)
До лечения	252,0 ± 9,72	30,12 ± 2,17	268,4 ± 10,93	31,07 ± 1,84	24,19 ± 1,63
После лечения	213,4 ± 8,55	39,05 ± 1,96	224,08 ± 9,82	42,15 ± 2,03	18,22 ± 1,85
p <	0,002	0,01	0,01	0,001	0,02

Таблица 4

ДИНАМИКА ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ И ВЯЗКОУПРУГИХ ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ ЭССЕНЦИАЛЬНЫМИ ФОСФОЛИПИДАМИ					
Группы обследованных	Параметры эритроцитов				
	амплитуда деформации, м	обобщенный показатель жесткости, Н/м	обобщенный показатель вязкости, Па · с	электропроводность, см/м	поляризуемость, м ³ , при 10 ⁶ Гц
До лечения	$0,51 \times 10^{-6} \pm 0,032 \times 10^{-7}$	$9,34 \times 10^{-6} \pm 1,14 \times 10^{-7}$	$0,78 \pm 0,05$	$8,41 \times 10^{-5} \pm 1,06 \times 10^{-6}$	$0,442 \times 10^{-15} \pm 0,08 \times 10^{-16}$
После лечения	$0,66 \cdot 10^{-6} \pm 0,041 \cdot 10^{-7}$	$6,71 \times 10^{-6} \pm 1,08 \times 10^{-7}$	$0,62 \pm 0,07$	$5,54 \times 10^{-5} \pm 0,87 \times 10^{-6}$	$0,69 \times 10^{-15} \pm 0,09 \times 10^{-16}$
$p <$	0,01	0,05	0,05	0,05	0,05
Группы обследованных	индекс агрегации, усл. ед.	индекс деструкции, %	скорость движения к электродам, мкм/с	емкость мембран, Ф	равновесная частота, Гц
До лечения	$0,84 \pm 0,09$	$5,61 \pm 0,54$	$3,67 \pm 1,14$	$3,28 \cdot 10^{-14} \pm 0,81 \cdot 10^{-15}$	$0,68 \times 10^5 \pm 0,36 \times 10^6$
После лечения	$0,61 \pm 0,05$	$3,40 \pm 0,60$	$7,74 \pm 0,97$	$5,49 \times 10^{-14} \pm 0,57 \times 10^{-15}$	$0,54 \times 10^5 \pm 0,47 \times 10^6$
$p <$	0,02	0,01	0,01	0,0001	0,02

крови фосфатидилхолин встраивается в липопро- теиды высокой плотности. Различные авторы [5; 10; 11] обнаружили избирательное накопление фосфа- тидилхолина в печени в первые 24–48 часов после введения. Полиенфосфатидилхолин полностью за- хватывался клетками печени и встраивался в кле- точные мембраны [1; 3].

Известно, что между мембранами эритроцитов и компонентами липидного спектра сыворотки крови постоянно происходит обмен, потому встраи- вание фосфатидилхолина в мембраны эритроцитов с последующим изменением их параметров является вполне закономерным. Так, в работах Т. Я. Леоновой и соавт. [12] установлено, что эритроциты способны адсорбировать на своей поверхности липопро- теиды плазмы крови в форме ЛПОНП, ЛПВП и ЛПНП. Эта возможность определяется содержанием ли- попротеидов в сыворотке крови и потребностью эритроцитов в холестерине, фосфолипидах. Между эритроцитами и адсорбированными на их поверх- ности липопро- теидами происходит постоянный обмен холестерина, фосфолипидов [13]. Вероятно, экзогенный полиненасыщенный фосфатидилхо- лин замещает эндогенный насыщенный фосфа- тидилхолин не только в мембране гепатоцитов [3], но и эритроцитов. Такое замещение приво- дит к повышению текучести клеточной мембраны и стимуляции связанных с мембраной ферментных систем, в частности кальцийзависимой АТФ-азы. Повышенная активность ферментов в сочетании с возможным снижением потребности в образова- нии эндогенных фосфолипидов способна облегчать утилизацию энергии процессами, участвующи- ми в восстановлении клетки [1; 2; 4]. Подобными процессами, вероятно, объясняются наблюдаемые

при назначении ЭФЛ повышение пластичности эритроцитов, снижение жесткости и вязкости кле- ток, повышение их энергетического потенциала, отражаемого в увеличении количества дискоцитов, нарастании поляризуемости.

Встраиваясь в мембраны эритроцитов, ЭФЛ, очевидно, способны восстанавливать актив- ность ферментов антиоксидантной системы (СОД и КАТ), угнетать перекисное окисление липи- дов мембран, тем самым стабилизируя мембрану. Следствием этого, вероятно, является снижение склонности мембран эритроцитов к избыточно- му гемолизу и последующей агрегации клеток. Дело в том, что гемолизат эритроцитов облада- ет прокоагулянтными свойствами, способствуя развитию вторичной гиперкоагуляции благода- ря рефлекторному выбросу в кровь тканевого тромбопластина. Появление в циркулирующей крови лизированных эритроцитов сопровожда- ется выделением эндогенных аминов, выраженной активацией кининовой системы [11; 13], что, в свою очередь, приводит к повышению биохимической активности процесса.

ЭФЛ, вероятно, способствуют и восстановлению отрицательного поверхностного заряда эритро- цитов, который отражается скоростью движения эритроцитов к электродам.

Подобные позитивные изменения параметров эритроцитов приводят к уменьшению степени микроциркуляторных нарушений, уровня ткане- вой гипоксии, которая является важным факто- ром прогрессирования фиброза [2; 11]. Возможно, именно эти эффекты объясняют факт того, что по- линенасыщенный фосфатидилхолин увеличивает выживаемость пациентов с ДПП путем воздействия



на механизм, непосредственно не связанный с гистологическими изменениями в печени (Z. Panos Marios и соавт., 1990) [2].

ВЫВОДЫ

1. Показатели вязкоупругих и электрических параметров эритроцитов при хронических гепатитах разной этиологии коррелируют с липидным и фосфолипидным составом мембран эритроцитов.

2. Функциональное состояние мембран эритроцитов при хронических гепатитах нарушено. В них возрастает соотношение холестерина/фосфолипиды за счет снижения уровня общих фосфолипидов, фракционный состав фосфолипидов изменяется в сторону уменьшения содержания фракций фосфатидилхолина, фосфатидилсерина, фосфатидилэтаноламина и сфингомиелина и увеличения относительного содержания лизофракций фосфолипидов.

3. Низкий уровень фосфолипидов в мембранах эритроцитов и вектор изменений их фракционного состава при диффузных заболеваниях печени

является основанием для применения эссенциальных фосфолипидов.

4. Дополнительным патогенетическим обоснованием курсового лечения эссенциальными фосфолипидами ДПП является достоверное улучшение на фоне 3-месячного лечения функциональных свойств эритроцитов (увеличение показателей пластичности, поляризуемости, емкости, скорости движения клеток к электродам и снижение уровней обобщенных показателей вязкости, жесткости, электропроводности, индексов агрегации и деструкции), что позволяет предполагать подобные позитивные изменения в мембранах гепатоцитов.

5. Оценка вязкоэластических и электрических параметров эритроцитов методом диэлектрофореза в неоднородном переменном электрическом поле (ДЭФ в НПЭП) является перспективным, экономически и патогенетически обоснованным методом оценки необходимости и эффективности фосфолипидзамещающей терапии диффузных заболеваний печени (возможно, и других способов лечения).

ЛИТЕРАТУРА

1. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции. — М.: Мир, 1997. — 624 с.
2. Болезни печени и желчевыводящих путей/Под ред. В. Т. Ивашкина. — М.: Медицина, 2005. — 536 с.
3. Маевская М. В., Ивашкин В. Т. Новый взгляд на эссенциальные фосфолипиды. // Рус. мед. журн. — 2004. — № 12. — С. 689–693.
4. Буевров А. О., Ешану В. С., Маевская М. В. и др. Эссенциальные фосфолипиды в комплексной терапии стеатогепатита смешанного генеза // Клин. перспективы гастроэнтерол., гепатол. — 2008. — № 1. — С. 17–22.
5. Brady L. M., Fox E. S., Fimmel C. J. Polyenylphosphatidylcholine inhibits PDFG — induced proliferation in rat hepatic stellate cells // Biochem. Res. Commun. — 1998. — Vol. 248. — P. 174–179.
6. Курилович С. А., Кручинина М. В., Генералов В. М. и др. Электрические параметры и структура мембран эритроцитов при диффузных заболеваниях печени. // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2009. — Т. XIX, № 2. — С. 30–36.
7. Кейтс М. Техника липидологии. Выделение, анализ и идентификация липидов/Пер. с англ. — М.: Мир, 1975. — С. 270–271.
8. Delaunay J. Molecular basis of red cell membrane disorders // Acta Haematol. 2002. — Vol. 108. № 4. — P. 210–218.
9. Chwiecko M., Holownia F., Bielawska A. et al. Inhibition of non-enzymatic lipid peroxidation by «Essentiale» a drug enriched in phosphatidylcholine in ethanol-induced liver injury // Drug and Alcohol Dependence. — 1993. — Vol. 33. — P. 87–93.
10. Kuntz E., Kuntz H. D. Hepatology Principles and practice. — Berlin: Heidelberg Springer Verlag, 2002 — P. 469–488.
11. Подымова С. Д. Болезни печени. — М.: Медицина, 1993. — 544 с.
12. Леонова Т. Я. К вопросу об эритроцитарном механизме регулирования холестеринемии при экспериментальной гиперхолестеринемии и ишемической болезни сердца: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 1982. — 22 с.
13. Новицкий В. В., Рязанцева Н. В., Степовая Е. А. Физиология и патофизиология эритроцита. — Томск: Изд-во ТГУ, 2004. — 202 с.