

УДК 616.1/4:616.155.1-008.1]-07

Структурно-функциональное состояние эритроцитарных мембран при заболеваниях внутренних органов

В.А. Мойсеенко, Л.И. Антоненко, Л.Л. Аршинникова, В.И. Ктитарева

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев

Ключевые слова: проницаемость, мембрана, эритроцит, сердце, почки, резистентность

Изучению структурно-функционального состояния клеточных мембран при различной патологии посвящено много работ. Так, осмотическая резистентность эритроцитов изучалась при профессионально вредных воздействиях на организм, в частности, у практически здоровых рабочих, которые подвергались влиянию токсических веществ в концентрациях, не вызывающих клинических проявлений интоксикации [9]. Было обнаружено развитие макроцитоза эритроцитов, обусловленное осмотическим набуханием клеток в результате изменений в мембранах эритроцитов под воздействием токсических веществ. Данные изменения авторы расценивают как проявление неспецифических перестроек структуры и функции эритроцитов в процессе реакции эритрона на вредное воздействие.

Исследование кислотной и осмотической резистентности проводилось у рабочих цеха по производству пиромеллитового диангирида.

Результаты показали, что у лиц со стажем работы 1-3 года эритроциты обладают пониженной стойкостью к

кислотному гемолизу. У обследуемых со стажем 3-5 лет наблюдалось некоторое приближение кислотной резистентности эритроцитов к контролю. При определении осмотической резистентности эритроцитов количество разрушенных в гипотоническом растворе (0,4 % NaCl) эритроцитов в I группе превышало контрольное значение на 58 %, во второй - на 28 %. Исходя из динамики осмотической резистентности эритроцитов и кислотной резистентности эритроцитов видно, что наиболее существенные сдвиги, отражающие реакции приспособления к вредным производственным факторам, происходят в первые годы работы, в то время как при более длительном контакте имеет место относительная адаптация к токсическим веществам. В эритроцитах этих групп параллельно регистрировалось падение АТФ, что можно рассматривать как одну из причин нарушения проницаемости мембран, которые, в свою очередь, вызвали сдвиги концентрации внутриклеточных катионов. По заключению авторов показатели кислотной резистентности эритроцитов и осмотической резистентности эритроцитов могут служить ранним маркером изменения функционального

состояния эритрона при воздействии вредных производственных факторов.

В связи с техническими трудностями прижизненного исследования мембран клеток внутренних органов для их характеристики используются косвенные показатели - состояние мембран эритроцитов. В ряде работ установлена достаточно высокая корреляция между изменениями свойств мембран эритроцитов и мембран клеток внутренних органов. Было показано, что с этой целью может быть успешно использовано определение показателя проницаемости эритроцитарных мембран.

Материал и методы

Исходя из этого, для оценки состояния клеточных мембран печени у больных хроническим гепатитом и портальным циррозом был применен метод мочевинового гемолиза эритроцитов. Проведенные исследования выявили несколько подтипов изменений проницаемости клеток, характер которых позволяет судить о степени выраженности дегенеративно-дистрофических сдвигов в гепатоцитах. Эти результаты под-

твердили ценность исследований проницаемости эритроцитарных мембран в сочетании с другими данными (IgA, G) для дифференциального диагноза и прогноза течения хронических поражений печени.

Осмотические свойства мембран эритроцитов изучались также у больных острым вирусным гепатитом и некоторыми хроническими поражениями печени. Резистентность клеток исследовалась в гипотонической среде натрия хлорида и глюкозы. Показано, что при этих заболеваниях имеет место повышение осмотической резистентности эритроцитов, что связано, вероятно, с накоплением холестерина в мембранах клеток, а понижение осмотической резистентности эритроцитов - с понижением отношения холестерин / фосфолипиды в мембранах. Экспериментальные исследования этих авторов выявили повышение осмотической стойкости эритроцитов у крыс, получавших два различных гепатотоксина-четырёххлористый углерод и α -нафтилизотиоцианат. Аналогичные изменения осмотической резистентности, полученные у больных острым вирусным гепатитом в разгар заболевания, у больных циррозом печени, а также при экспериментальном поражении печени химическими агентами, говорят об универсальности механизма, лежащего в основе этого явления - о структурной реорганизации мембран эритроцитов и модификации их функции в результате изменения белково-липидных взаимодействий в их мембранах. Показатель теста гипотонического гемолиза тесно коррелирует с тяжестью патологического процесса в печени. Осмотические изменения свойств мембран авторы объясняют возникновением гипоксии как универсального неспецифического синдрома при различных поражениях печени.

Проницаемость эритроцитарных мембран изучалась нами у крыс в динамике хронических неспецифических заболеваний легких [1-4]. Воспалительный процесс моделировали путем микроэмболизации сосудов малого круга взвесью куриных эритроцитов согласно разработанного нами на собаках «Способа моделирования хронической пневмонии». Для адаптации способа к крысам были внесены некоторые изменения. Проведенные исследования показали, что наиболее резко выра-

женные изменения проницаемости эритроцитарных мембран в растворах всех концентраций (от 0,55 до 0,3 % - ной) выявлены в острый период патологического процесса, т.е. через 1 мес. от начала моделирования. В 0,4 % - ном растворе натрия хлорида уровень гемолиза превышал контрольный на 168 %. В хронической стадии процесса (2,5-4,5 мес.) выраженность изменений снижалась, продолжая, однако, оставаться выше исходных величин. Таким образом, развитие хронических неспецифических заболеваний легких, как было показано, сопровождается повышением проницаемости эритроцитарных мембран, что в остром периоде, вероятно, обусловлено действием на клеточную мембрану возросшего в крови количества биологически активных веществ различного происхождения, а в более позднем - нарушением липидного состава мембран.

В исследованиях, посвященных острым эрозивно-язвенным повреждениям пищеварительного канала при хирургическом и комбинированном лечении злокачественных образований больных, наряду с другими нарушениями в организме, были также обнаружены механизмы реализации патологических стрессовых реакций, в частности, мембранодеструктивные процессы [13]. Изучение состояния эритроцитарных мембран выявило существенное нарушение их функции у больных после операции. Сорбционная способность эритроцитов увеличивалась на 33-35 %. Параллельно ухудшилась их стойкость к осмотическому гемолизу. Уточнение патогенеза развития эрозивно-язвенных повреждений пищеварительного канала у больных осуществлялось в эксперименте на крысах при моделировании иммобилизационно-реперпиновых стрессовых повреждений пищеварительного канала. У животных, как и у больных, также имело место достоверное снижение стойкости эритроцитов к гемолизу. Так, в 0,45 % растворе NaCl степень гемолиза возрастала по сравнению с исходной на 280 %. Полученные факты обусловили выбор препаратов (милдронат, альфа-токоферол, бета-блокатор анаприлин) для профилактической фармакотерапии, эффективность которой предварительно была изучена в эксперименте [4].

Использование разработанной схемы профилактики острых повреждений канала пищеварения значительно уменьшило степень нарушений функционального состояния мембран. У больных колоректальным раком процент поглощения красителя при исследовании сорбционной способности эритроцитов равнялся $54,6 \pm 1,8$, что на 19,8 % было ниже, чем в контрольной группе и всего на 11,5 % выше, чем до операции. Тенденция к снижению этого показателя отмечалась также у больных раком пищевода и желудка - на 9,6 % в сравнении с контролем и на 17 % выше, чем до операции. У больных опухолями всех локализаций в условиях профилактики наблюдалось повышение стойкости эритроцитов к осмотическому гемолизу, показатель которого приближался в основной группе к предоперационным значениям.

Автором сделан вывод, что одним из ведущих звеньев патогенеза стрессовых повреждений пищеварительного канала после онкохирургического вмешательства является мембранодеструктивный процесс в слизистой желудка, а определение функционального состояния эритроцитарных мембран является надежным информативным методом их диагностики.

Для диагностики и прогноза течения эндогенной интоксикации и эффективности лечения острого холецистита у больных пожилого и старческого возраста адекватными и информативными являются показатели проницаемости эритроцитарных мембран - осмотическая резистентность эритроцитов и сорбционная способность эритроцитов, отражающие мембранодеструктивные процессы клеток. Изменения показателей ПЭМ в 79 % случаев опережали нарушения других показателей эндогенной интоксикации и могли рассматриваться своего рода ранними маркерами патологического состояния. Значения осмотической резистентности эритроцитов в пределах 40 - 60 % и сорбционной способности эритроцитов - 65 - 75 % достоверно свидетельствовали об угрозе развития осложнения основного заболевания, а при осмотической резистентности эритроцитов 61 % и выше и сорбционной способности эритроцитов - 76 % и выше у 92 % больных отмечался летальный исход. Именно этот принцип был по-

ложен в основу распределения на степени сложности состояния больного с целью проведения адекватного предварительного лечения. По заключению автора методы определения осмотической резистентности эритроцитов и сорбционной способности эритроцитов высокоинформативны и эффективны для оценки состояния организма, что позволяет рекомендовать их применение в клинической медицине. Они могут быть использованы не только в хирургии, но и в других областях для прогнозирования близких и ожидаемых результатов лечения. В качестве критериев прогноза автором запатентованы способ прогнозирования эндогенной интоксикации у гериатрических больных острым холециститом и его осложнениями и способ диагностики степени эндогенной интоксикации у тех же больных.

Нарушение проницаемости эритроцитарных мембран обнаружено у детей с хроническим гастродуоденитом, а также при экспериментальном моделировании у крыс деструктивных повреждений слизистой оболочки ЖКТ [8]. Достоверное повышение процента поглощенного красителя у больных хроническим гастродуоденитом по сравнению с здоровыми детьми с $37,1 \pm 1,4$ до $70,1 \pm 2,4$ ($p < 0,05$) стало доказательством нарушения функции эритроцитарных мембран. Применение маалокса, смекты и отвара корня солодки восстанавливало состояние слизистой оболочки и функционирование биологических мембран. Автором рекомендовано внедрение методов осмотической резистентности и сорбционной способности эритроцитов в клиническую практику для алгоритма диагностики гастродуоденита и его реабилитации.

Состояние проницаемости эритроцитарных мембран изучалось у больных ИБС, ИБС с гипертонической болезнью и в условиях коррекции их антагонистами кальция – дилтиаземом и нифидипином [7]. Были выявлены существенные нарушения проницаемости эритроцитарных мембран. Так, при ИБС I-II функционального класса (ФК) в 0,4 %-ной концентрации NaCl, в которой обычно гемолизируются стойкие формы эритроцитов, процент гемолиза составлял $40,4 \pm 7,7$ против $27,3 \pm 3,6$ в контроле, а при III-IV ФК соответствовал $46,6 \pm 6,5$ ($p < 0,05$). Достоверно повышалась и сорбцион-

ная способность эритроцитов: при I-II ФК процент поглощенного красителя равнялся $61,0 \pm 4,5$ % против $38,0 \pm 1,1$ ($p < 0,05$) в норме и $74,5 \pm 7,2$ ($p < 0,05$) при III-IV ФК. В условиях применения дилтиазема резистентность клеток к гемолитическому гемолизику повышалась. Использование нифидипина, наоборот, способствовало дальнейшему ее понижению. В связи с отсутствием стабилизирующего эффекта на клеточные мембраны нифидипина, было целесообразным использование его в сочетании с α – токоферолом, обладающим мембраностабилизирующим действием [6].

Осмотическая резистентность эритроцитов изучалась у мужчин, больных ишемической болезнью сердца до и после гравитационного плазмафереза [10]. Сделан вывод, что плазмаферез повышает стойкость эритроцитов к гипотоническому гемолизу, особенно у больных с низкой осмотической резистентностью эритроцитов.

Аналогичные исследования проводились у больных с абсцессами и гангреной легких. Осмотическая резистентность эритроцитов изучалась в комплексе с другими показателями – содержанием ферритина, фолата, витамина B_{12} в сыворотке крови, агрегационной активности тромбоцитов. Выявлены предельно низкие уровни фолата, не коррелирующие со степенью выраженности анемии, но имеющие взаимосвязь с низкой осмотической резистентностью эритроцитов. Обнаружена высокая концентрация свободного гемоглобина – показателя тяжести интоксикации. Кинетика изменения свойств эритроцитов относительно медленна, но лавинообразно нарастает при критических состояниях.

При операциях в условиях искусственного кровообращения по поводу ИБС (40 больных) и аневризмы торакоабдоминального отдела аорты установлено, что температуру $27-28^{\circ}\text{C}$ можно рассматривать как необходимое условие клеточного гомеостаза для формирования устойчивости эритроцитов к осмотическому стрессу, а 28°C – критической для удовлетворительного функционирования реакций регуляции осмотической резистентности эритроцитов [6,7]. Полученные результаты позволили заключить, что снижение осмотической резистентности эритро-

цитов и уменьшение ее артерио-венозной разности являются прогностически значимыми признаками в отношении риска развития осложнений и прежде всего дыхательной недостаточности у кардохирургических больных.

Выполнена большая работа на крысах по изучению кислотной резистентности эритроцитов в условиях кадмиевой интоксикации [12]. Параллельно исследовалось функциональное состояние эритроцитов с помощью эритроцитарных индексов, жирнокислотный спектр липидов, гемоглобин. Анализ кислотных эритрограмм показал увеличение времени общего гемолиза и времени максимального гемолиза соответственно в среднем на 40 и 34 %, при многократной интоксикации – на 36 и 68 %. В периферической популяции эритроцитов уменьшилось количество низко- и среднестойких клеток соответственно на 58 и 25 % при однократной и на 47 и 21 % при многократном введении кадмия. С увеличением времени интоксикации наблюдалось повышение уровня высокоустойчивых эритроцитов как в условиях однократной, так и многократной интоксикации. Полученные результаты свидетельствуют про модификацию мембранных компонентов эритроцитов в условиях действия кадмия, что может быть обусловлено нарушением структуры липопротеинового комплекса клеточных мембран. Следствием таких нарушений является усиленное проникновение протонов H^+ через мембрану эритроцитов, протонирование белков мембраны и гемоглобина, что вызывает снижение стойкости эритроцитов к кислотному гемолизику. Это имеет важное значение для метаболизма эритроцитов, функционирования гемоглобина и поддержания кислородного гомеостаза организма в целом.

Проницаемость мембран и сорбционная способность эритроцитов изучались при хирургическом лечении больных злокачественными новообразованиями органов брюшной полости в условиях применения низкомолекулярных гепаринов и «церулоплазмина» [15]. Исследовались изменения активности ПОЛ по содержанию малонового диальдегида и степень агрегации эритроцитов. Полученные данные свидетельствуют, что при данной патологии наблюдается активация ПОЛ, сни-

жение антиоксидантной защиты, что, в свою очередь, сопровождается повышением проницаемости сорбционной способности и среднего объема эритроцитов. Эти изменения прогрессируют после хирургического вмешательства, достигая максимальной выраженности через 2-3 суток после операционного периода. Назначение больным нефракционированного гепарина и «церулоплазмина» максимально улучшало структурно-функциональные и агрегационные свойства эритроцитарных мембран и полностью предупреждало развитие тромбозов легочной артерии.

Достаточно важную роль в возникновении и прогрессировании нефропатий играет патология клеточных мембран. Появление ферментурии при воспалительных заболеваниях почек считается одним из маркеров повреждения канальцевого аппарата почек. Спектр ферментов, которые выделяются с мочой при поражении структурных элементов почечной ткани, есть широким и включает внутриклеточные ферменты, цитоплазматические и лизосомальные энзимы. Поэтому изучение ферментурии позволяет не только решать вопросы диагностики почечной патологии, но и выявлять механизмы их развития на уровне цитомембран, что есть очень важным для выбора метода патогенетической терапии.

Кроме того, показатели осмотической и кислотной резистентности, а также сорбционной способности эритроцитов исследовались и при других заболеваниях, в частности, у больных хронической почечной недостаточности, у детей раннего возраста с атонической бронхиальной астмой в условиях применения обзидана, у больных миотонической дистрофией, при геморрагической лихорадке с почечным синдромом [14], у больных менингитом [5], простатитом, у беременных с анемией и их новорожденных, при экспериментальном диабете с применением карнизолла для стабилизации мембран, при лучевой терапии злокачественных заболеваний, у детей и

подростков с сахарным диабетом [12] и мн. др.

Все эти многочисленные данные свидетельствуют о ведущей роли показателей функционального состояния клеточных мембран в патогенезе различных патологических процессов и механизме действия фармакологических средств.

Выводы

Таким образом, приведенный материал свидетельствует о широком применении методов определения осмотической и кислотной резистентности, а также сорбционной способности эритроцитов в клинике и эксперименте, что связано с их высокой чувствительностью и информативностью.

Эти важные гематологические параметры позволяют определять сдвиги в организме на самых ранних этапах развития патологического процесса, когда они еще не проявляются со стороны других показателей.

Кроме того, использование данных методов удобно для характеристики течения патологических процессов, их прогноза и оценки эффективности применяемой фармакотерапии.

Литература

1. Антоненко А.П., Французова С.Б., Аршинникова А.А. Влияние мидрофрата на проницаемость эритроцитарных мембран при экспериментальной патологии легких. // Эксперим. и клинич. фармакол. – 1992. – №6. – С.33-35.
2. Антоненко А.П., Французова С.Б., Аршинникова А.А., Харьков А.А. Показники проникності еритроцитарних мембран (ПЕМ) в діагностиці ендогенної інтоксикації при патології гепатобіліарної системи. // VI конгрес світових федерацій українських лікарських товариств, 9-14 вересня 1996 р. Тези доповідей, розд.5. Нові методи діагностики і лікування. 5.1. Гастроентерологія, №331. – С.112.
3. Антоненко А.П., Французова С.Б., Зотов О.С., Горячева І.П., Шеревер Г.В. Проникність еритроцитарних мембран як показник функціонального стану організму при експериментальному подразненні шлунково-кишкового тракту // Актуальні проблеми експериментальної медицини. II наук. – практ. конф. – Київ, 1998.
4. Антоненко А.П., Французова С.Б., Колесова

Н.А., Аршинникова А.А., Толстых О.П. Функціонально-морфологічне состояние клітинних мембран при антиоксидантній недостатності і в умовах її фармакологічної корекції. // Системно-антисистемна регуляція в нормі і патології. Науч. труды (доклади і матеріали). III Міжнарод. симпозіум «Системно-антисистемна регуляція в живій і неживій природі». – Київ, 1993. – С.125-129.

5. Бондарев А.С., Зайцев П.А. Изменение осмотической резистентности эритроцитов у больных менингитом. // Изд-во «Медицина», «Клинич. лаб. диагностика». М., 1998.

6. Гуріна О.М., Лебедінська М.Р., Антоненко А.П., Аршинникова А.А. Стан енергозабезпечення та проникності еритроцитарних мембран в залежності від перебігу ішемічної хвороби серця // Збірник наукових праць співробітників КМАПО ім. П.А. Шупика, Київ. – 2004. – Вип.13, кн.3. – С.86-91.

7. Глушенко А.В. Особливості енергетичного і ліпідного обміну та аутоімунних процесів у хворих на ішемічну хворобу серця при застосуванні антагоністів кальцію. Автореф. ... канд. мед. наук. Київ, 2000. – 20с.

8. Горячева І.П. Оптимізація лікування хронічного гастродуоденіту у дітей (клініко-експериментальні дослідження). Київ, Автореф... канд. дис., 2000 – 20с.

9. Грибова П.А., Гусейнов П.А., Павлюченко Н.П. и др. Морфофункциональные изменения эритроцитов при воздействии токсических факторов // Гигиена и санитария. – 1980. – №6. – С.74-76.

10. Гуров А.Ю., Батурич В.А. Осмотическая резистентность эритроцитов у мужчин, больных ишемической болезнью сердца до и после фракционного плазмафреза // VIII Всероссийский съезд анестезиологов и реаниматологов. – Омск, 2002 (11-15 сент.) (доклад).

11. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липотропидов. М.: Наука, 1989. – 277с

12. Ераченко Г.М. Біохімічні механізми пошкодження еритроцитів за умов експериментальної інтоксикації кадмієм: Автореф. дис. ... д-ра. біол. наук: Нац. мед. ун-т ім. О. О. Богомольця. – К., 2004. – 36 с.

13. Зотов О.С. Гострі ерозивно-виразкові ураження травного каналу при хірургічному та комбінованому лікуванні злоякісних новоутворень. (клініко-експериментальні дослідження). Київ, Автореф... канд. дис., 1998. – 20с.

14. Пфагимова А.А., Фазлыева Р.М., Давлетов Э.Г., Низамова Э.П., Щепанский В.О. Клинико-диагностическое значение определения осмотической и кислотной резистентности эритроцитов у больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом // Здравоохранение Башкортостана. – 1997. – №11-12. – С.30-34.

15. Кабан О.П., Гуніна А.М., Коробко В.Б. Вплив комплексного застосування низькомолекулярних гепаринів і „церулоплазміну” на частоту післяопераційних тромбоемболічних ускладнень у хворих на рак органів черевної порожнини // Новості медицини і фармації. – 2005. – №9. – С.9.

Структурно-функціональний стан еритроцитарних мембран при захворюваннях внутрішніх органів

В.О. Мойсеєнко, Л.І. Антоненко, Л.Л. Аршиннікова, В.І. Ктитарева

Висвітлені питання про роль і стан еритроцитарних мембран у хворих з різними захворюваннями внутрішніх органів, зокрема, при ураженні серця, нирок, легень тощо. Визначення осмотичної резистентності, сорбційної здатності еритроцитів важливе для вибору тактики патогенетичної терапії.

Ключові слова: проникність, мембрана, еритроцит, серце, нирки, резистентність.

Structurally functional condition erythrocytes of membranes at diseases of internal bodies

V.O. Moyseyenko, L.I. Antonenko, L.L. Arshynnikova, V.I. Ktitareva

The the covered questions on a role and condition erythrocytes of membranes in the patients with different diseases of internal bodies, particulary, at a defeat of heart, kidney et al. Definition osmotic resistance, sorbtion abilities erythrocytes important for a choice of tactics patogenic therapies.

Key words: permeability, membrane, erythrocyte, heart, kidney, resistance.