



УДК 616.12-007.61: 616.155.1-008.1

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ В УСЛОВИЯХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И СПОСОБЫ ИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ

**Е.В. ГАВРИЛЮК
Ю.И. СУСЛОВА
К.А. ПЁХОВА
Н.А. БЫСТРОВА**

*Курский
государственный
медицинский
университет*

e-mail: ganneta@list.ru

В статье изложены данные о характере и степени нарушений структурно-функциональных свойств эритроцитарной мембраны у пациентов с гипертонической болезнью в зависимости от степени тяжести. Определена представительность белков и липидов в мембране эритроцитов в условиях гипертонической болезни. Установлена эффективность использования стандартной фармакотерапии как отдельно, так и в сочетании с милдронатом.

Ключевые слова: гипертоническая болезнь, эритроцитарная мембрана, белки мембран, фосфолипиды, милдронат.

Введение. Ухудшение гемореологических показателей при кардиологической патологии, в том числе и при гипертонической болезни, тесно связано с изменением структурно-функциональных особенностей мембран эритроцитов. Дегенеративные формы эритроцитов являются менее полноценными, чем дискоциты, с точки зрения микроциркуляции, кислород-транспортной функции, способности к деформации, поэтому увеличение их количества является неблагоприятным признаком [3]. От цитоархитектоники эритроцитов зависит их агрегационная способность [1, 2]. Гиперагрегация эритроцитов нарушает нормальную структуру кровотока в микрососудах и приводит к повышению вязкости крови, микроциркуляторному блоку, прогрессированию тканевой гипоксии [13].

Цитоархитектоника эритроцитов во многом определяет их функциональные свойства и отражает состояние как мембран эритроцитов, так и клеточных мембран организма в целом [3]. Оценка изменений поверхностной цитоархитектоники может служить индикатором эффективности проводимой терапии [5]. Весьма интересно и важно с практической точки зрения изучить цитоархитектонику эритроцитов при гипертонической болезни как интегральный показатель состояния эритроцитарного звена реологических свойств крови [6].

Отсутствие достоверных данных о физико-химических свойствах эритроцитов при гипертонической болезни предопределяет целесообразность их детального изучения для определения способов коррекции нарушений при данной нозологии.

Цель исследования – установление нарушений состояния мембраны красных клеток крови у пациентов с гипертонической болезнью в зависимости от стадии заболевания.

Материалы и методы. В работе представлены данные обследования и лечения на базе ОБУЗ «Городская клиническая больница скорой медицинской помощи» г. Курска 97 пациентов с верифицированным, согласно рекомендациям ВОЗ/МОГ (1999), диагнозом гипертоническая болезнь I, II, III стадий, основанном на данных комплекса клинико-инструментальных методов обследования. Ведущим критерием включения в исследование больных ЭАГ было наличие у них стойкой ночной гипертензии и «non-dipper» типа суточной кривой по результатам двойного СМАД для исключения влияния случайных факторов на профиль АД. Все больные находились на безнитратной диете.

Группу контроля составили 28 здоровых доноров (11 женщин и 17 мужчин), средний возраст которых составил $35,2 \pm 2,1$ лет. Критерии включения пациентов в исследование: мужчины и женщины в возрасте 30-60 лет; артериальная гипертензия I, II или III стадии с анамнезом заболевания более 3 лет.

Электрофорез мембранных белков эритроцитов проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля; кроме этого, определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [7, 8].

Эритроциты отмывали по методике E. Beutler [9], а мембраны эритроцитов получали методом G.T. Dodge [10]. Электрофорез проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli [12]. Белки окрашивали Кумаси голубым R-250 по модифицированной методике G. Fairbanks [11].

Все пациенты получали стандартную фармакотерапию: с I стадией гипертонической болезни монотерапию лизиноприлом, со II стадией – дополнительно гипохлортиазид, с III стадией получали помимо лизиноприла, гипохлортиазида еще и амлодипин. Тогда как 49 пациен-



тов дополнительно к стандартной фармакотерапии получали милдронат (750 мг/сут. в/в до 10 дней затем внутрь до 8 недель).

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя параметрические и непараметрические методы [4].

Результаты. У пациентов с гипертонической болезнью I стадии в мембране красных клеток крови снижен уровень подфракций спектрина, анкирина и повышен уровень белка полосы 4.1 и дематина, что привело к снижению у данной категории пациентов СЕГ и ССЭ (табл. 1).

Таблица 1

Представительность белков и сорбционные свойства мембраны эритроцитов у больных гипертонической болезнью ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые доноры	Гипертоническая болезнь		
		I стадия	II стадия	III стадия
	1	2	3	4
α-спектрин	114,3±8,8	98,2±4,7 ^{*1}	101,1±5,1 ^{*1}	76,2±3,91 ^{*1-3}
β-спектрин	106,6±7,6	91,8±3,81 ^{*1}	75,3±4,72 ^{*1,2}	65,7±2,19 ^{*1-3}
Анкирин	113,3±8,2	62,6±4,5 ^{*1}	70,2±5,82 ^{*1}	39,5±2,81 ^{*1-3}
Анионтранспортный белок	189,6±6,4	188,6±9,31	239,6±17,8 ^{*1,2}	226,2±10,5 ^{*1,2}
Белок полосы 4.1	43,3±4,1	74,2±3,34 ^{*1}	53,2±3,82 ^{*1,2}	92,1±8,4 ^{*1-3}
Паллидин	56,6±3,1	61,4±3,73	46,5±2,14 ^{*1,2}	77,1±4,3 ^{*1-3}
Белок полосы 4.5	98,2±7,5	89,2±7,7	126,6±9,05 ^{*1,2}	78,9±6,35 ^{*1-3}
Дематин	20,1±2,1	36,8±2,82 ^{*1}	22,1±1,87 ^{*2}	50,1±4,8 ^{*1-3}
Актин	102,1±8,9	108,1±7,41	110,3±8,26	136,2±11,7 ^{*1-3}
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа	37,8±2,6	39,8±2,81	21,2±1,93 ^{*1,2}	42,4±4,81 ^{*3}
Тропомиозин	68,8±4,6	63,7±3,06	69,5±4,2	75,1±5,03 ^{*2}
Глутатион-S-трансфераза	49,3±4,1	55,5±3,02	46,3±3,82 ^{*2}	58,9±4,51 ^{*1-3}
СЕГ	1,42±0,1	1,13±0,12 ^{*1}	1,29±0,08 ^{*1,2}	1,25±0,09 ^{*1,2}
ССЭ	32,8±1,2	22,1±2,41 ^{*1}	21,3±1,13 ^{*1}	20,2±1,72 ^{*1}

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

У больных с гипертонической болезнью II стадии в эритроцитарной мембране, по сравнению с предыдущей группой больных, в большей стадии снижена представительность β-спектрина, дополнительно возрастает уровень анионтранспортного белка, белка полосы 4.5 и снижается представительность паллидина и глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (табл. 1).

У пациентов с III стадией гипертонической болезни резко снижен уровень в мембране эритроцитов подфракций анкирина, спектрина, белка полосы 4.5 и повышен уровень белка полосы 4.1, актина и дематина (табл. 1).

Таблица 2

Представительность липидов в мембране эритроцитов у больных гипертонической болезнью ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые доноры	Гипертоническая болезнь		
		I стадия	II стадия	III стадия
	1	2	3	4
Лизофосфатидилхолин	5,38±0,17	6,4±0,11 ^{*1}	7,7±0,23 ^{*1,2}	10,1±0,48 ^{*1-3}
Сфингомиелин	11,02±0,52	14,1±0,61 ^{*1}	11,2±0,41 ^{*2}	9,9±0,22 ^{*1-3}
Фосфатидилинозитол	19,7±0,69	22,1±0,51 ^{*1}	23,6±1,22 ^{*1}	17,4±1,1 ^{*1-3}
Фосфатидилхолин	23,01±0,71	19,4±0,68 ^{*1}	18,8±0,91 ^{*1}	17,6±0,77 ^{*1,2}
Фосфатидилэтаноламин	23,45±0,97	23,3±1,24	19,6±0,43 ^{*1,2}	20,0±0,87 ^{*1,2}
Холестерин	47,79±1,38	54,2±2,17 ^{*1}	54,9±2,0 ^{*1}	59,7±2,33 ^{*1-3}
Моно и диглицириды	9,55±0,49	10,2±0,31	11,5±0,48 ^{*1,2}	11,5±0,52 ^{*1,2}
Свободные жирные кислоты	2,98±0,17	3,0±0,13	3,4±0,31	3,2±0,11
Триглицериды	14,48±0,67	12,7±0,81 ^{*1}	14,8±1,2 ^{*2}	12,4±1,33 ^{*1-3}
Эфиры холестерина	46,19±1,62	34,6±2,4 ^{*1}	34,6±3,3 ^{*1}	31,2±2,88 ^{*1}

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



Нами был определен уровень нейтральных липидов и фосфолипидов в мембране красных клеток крови. Так, при I стадии гипертонической болезни возрастает уровень лизофосфатидилхолина, сфингомиелина, фосфатидилинозитола и холестерина и снижается представительность триглицеридов, эфиров холестерина и фосфатидилхолина, тогда как у больных со II стадией дополнительно повышен уровень моно- и диглицеридов и снижена представительность фосфатидилинозитола (табл. 2).

У больных гипертонической болезнью III ст. в эритроцитарной мембране выраженность изменений представительности липидов максимальна: в большей степени возросла представительность лизофосфатидилхолина и холестерина и снизился уровень сфингомиелина и фосфатидилхолина (табл. 2).

Использование стандартной фармакотерапии у пациентов с I стадией гипертонической болезни позволило нормализовать в мембране эритроцитов только уровень анкирина и холестерина, у пациентов с II стадией – анионтранспортный белок и моно- и диглицериды, тогда как у пациентов с III стадией – только представительность анионтранспортного белка.

Применение милдроната дополнительно к стандартной фармакотерапии пациентов с I стадией гипертонической болезни позволило нормализовать в мембране красных клеток крови представительность β -спектрина, анкирина, дематина, сфингомиелина, холестерина, эфиров холестерина, что позволило достигнуть контрольных значений СЕГ (табл. 3).

У больных гипертонической болезнью II стадией милдронат позволил довести до уровня нормы представительность в мембране эритроцитов β -спектрина, анионтранспортного белка, фосфатидилэтаноламина, холестерина и моно- и диглицеридов, тогда как у пациентов с III стадией только уровень анионтранспортного белка и фосфатидилэтаноламина (табл. 3).

Обсуждение. Таким образом, исходя из функций интегральных и периферических белков мембраны эритроцитов, можно заключить, что выявленные изменения у больных гипертонической болезнью направлены на уменьшение прочности и деформируемости эритроцитарной мембраны (снижение уровня анкирина, спектрина), снижение общей сорбционной способности эритроцитов и их гликокаликса и повышение их метаболической активности (повышение уровня анионтранспортного белка), что ускоряет процессы старения красных клеток крови, тогда как у пациентов с гипертонической болезнью III стадии данные изменения более выражены [1, 3].

Таблица 3

Эффективность милдроната в коррекции представительности белков и липидов в мембране эритроцитов у больных гипертонической болезнью ($M \pm m$)

Показатели	Гипертоническая болезнь		
	I стадия	II стадия	III стадия
	2	3	4
α -спектрин	коррекция	коррекция	не влияет
β -спектрин	нормализация	нормализация	коррекция
Анкирин	нормализация	коррекция	не влияет
Анионтранспортный белок	не влияет	нормализация	нормализация
Белок полосы 4.1	не влияет	не влияет	не влияет
Паллидин		коррекция	не влияет
Белок полосы 4.5		не влияет	коррекция
Дематин	нормализация		не влияет
Актин			не влияет
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа		не влияет	
Глутатион-S-трансфераза		–	коррекция
Лизофосфатидилхолин	не влияет	коррекция	коррекция
Сфингомиелин	нормализация		не влияет
Фосфатидилинозитол	не влияет	коррекция	не влияет
Фосфатидилхолин	не влияет	коррекция	коррекция
Фосфатидилэтаноламин		нормализация	нормализация
Холестерин	нормализация	нормализация	коррекция
Моно и диглицериды		нормализация	коррекция
Триглицериды	не влияет		не влияет
Эфиры холестерина	нормализация	коррекция	коррекция
СЕГ	нормализация	коррекция	не влияет
ССЭ	не влияет	не влияет	не влияет



У больных гипертонической болезнью в мембране эритроцитов выявлены различные изменения в липидном спектре, что в свою очередь сказывается и на организации мембраны в целом. Так, повышенный уровень холестерина уменьшает подвижность жирных кислот, снижает латеральную диффузию липидов и белков, изменяет функцию последних, снижение сфингомиелина при III стадии обуславливает снижение микровязкости липидной фазы мембраны, тогда как низкий уровень фосфатидилхолина снижает проницаемость мембраны и уменьшает метаболизм холестерина [3, 6].

Поэтому очевидна необходимость коррекции у больных гипертонической болезнью нарушений структурно-функциональных свойств красных клеток крови, которые могут быть достигнуты использованием препаратов, обладающих антиоксидантной активностью. В этом отношении достаточно эффективным оказался милдронат, особенно у пациентов с I-II стадиями заболевания, тогда как у пациентов с III стадией использование дополнительно одного милдроната недостаточно.

Литература

1. Гаврилюк, В.П. Иммуномодулирующая терапия в комплексном лечении аппендикулярного перитонита у детей / В.П. Гаврилюк, А.В. Караулов, А.И. Конопля // Иммунология. – 2011. – Т. 32, № 4. – С. 213-216.
2. Гаврилюк, В.П. Иммунометаболические нарушения у детей с разлитым аппендикулярным перитонитом с различной степенью тяжести / В.П. Гаврилюк, С.В. Костин, А.И. Конопля // Курский науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – Курск, 2010. – № 4. – С. 38-42.
3. Кодин, А.В. Нарушения реологических свойств эритроцитов у больных стенокардией напряжения III функционального класса в сочетании с гипертонической болезнью и их коррекция / А.В. Кодин, М.В. Березин, А.М. Березина и др. // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2008. – Т. 13, № 1-2. – С. 40-45.
4. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М.: Высш. школа, 1980. – 293с.
5. Маколкин, В.И. Состояние микроциркуляции при гипертонической болезни // В.И. Маколкин // Кардиология. – 2003. – № 5. – С. 60-67.
6. Рязанцева, Н.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии / Н.В. Рязанцева, В.В. Новицкий // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 1, № 1. – С. 53-65.
7. Семко, Г.А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе / Г.А. Семко // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 113-118.
8. Тогайбаев, А.А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А.А. Тогайбаев, А.В. Кургузкин, И.В. Рикун // Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24.
9. Beutler, E. How do red cell enzymes age a new perspective / E. Beutler // Brit. J. Haemat. – 1985. – V. 61. – P. 377-384.
10. Dodge, G.T. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes / G.T. Dodge, C. Mitchell, D.J. Hanahan // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – V.100. – P. 119-130.
11. Fairbanks, G., Steck, T. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane / G. Fairbanks, T. Steck // Biochemistry. – 1971. – V. 10. – P. 2606-2616.
12. Laemli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 / U.K. Laemli // Nature. – 1970. – V. 227. – P. 680.
13. Lévy, B.I. The importance of microcirculation and tissue perfusion in hypertension / B.I. Lévy // Curr. Med. Res. Opin. – 2005. – Vol. 21, N 5. – P. 1-6.

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES IN THE CONDITIONS OF THE IDIOPATHIC HYPERTENSIA AND WAYS OF THEIR PHARMACOLOGICAL CORRECTION

**E.V. GAVRILIOUK
Y.I. SUSLOVA
K.A. PEHOVA
N.A. BISTROVA**

Kursk State Medical University

e-mail: ganneta@list.ru

In article the data about character and degree of disturbances of structural and functional properties of an erythrocyte membrane at patients with an idiopathic hypertension depending on severity level is stated. Imposing appearance of fibers and lipids in a membrane of erythrocytes in the conditions of an idiopathic hypertension is defined. Efficiency of use of standard pharmacotherapy as separately, and in a combination with myldronat is established

Keywords: idiopathic hypertension, an erythrocyte membrane, fibers of membranes, phospholipids, myldronat.