

УДК:616.37-002 : 616-092.18

БЕЛКОВО-ЛИПИДНЫЙ СПЕКТР МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

Локтионов А.Л., Конопля А.И., Долгарева С.А., Микаелян П.К., Коклин И.В.
Курский государственный медицинский университет, Курск, e-mail: ala-loc@yandex.ru

В условиях острого билиарного, больше при небилиарном панкреатите, установлены изменения структурно-функциональных свойств эритроцитов, свидетельствующие об уменьшении прочности и деформируемости эритроцитарной мембраны, снижении ее микровязкости и проницаемости. Выявлено повышение общей сорбционной способности эритроцитов, интенсификация липолитических процессов и снижение метаболической активности. Проведенное лечение недостаточно корригирует нарушения белкового и липидного спектра мембран эритроцитов при остром билиарном и в еще меньшей степени при остром небилиарном панкреатите.

Ключевые слова: острый билиарный панкреатит, острый небилиарный панкреатит, белки и липиды мембран, эритроциты

THE PROTEIN AND THE LIPIDE SPECTRUM OF THE MEMBRANE OF ERYTHROCYTES AT SICK WITH ACUTE PANCREATITIS OF THE VARIOUS ETIOLOGY BEFORE AND AFTER THE TREATMENT

Loktionov A.L., Konoplya A.I., Dolgareva S.A., Mikaelyan P.K., Koklin I.V.
Kursk State Medical University, Kursk, e-mail: ala-loc@yandex.ru

In the conditions of acute bile, it is more at nonbile a pancreatitis, changes of structurally functional properties of the erythrocytes, durabilities testifying to reduction and deformability of an erythrocyte membrane, depression of its microviscosity and permeability are established. Rising of the general sorption abilities of erythrocytes, an intensification of lipolytic processes and depression of metabolic activity is taped. The spent treatment isn't enough correction disturbance of an albuminous and lipide spectrum of membranes of erythrocytes at acute bile and in even smaller degree at acute nonbile a pancreatitis.

Keywords: acute bile a pancreatitis, acute nonbile a pancreatitis, protein and lipids of membranes, erythrocytes

Острый панкреатит (ОП) – одна из наиболее сложных urgentных хирургических патологий в диагностическом и лечебном плане. Это обусловлено целым рядом причин, в том числе и отсутствием общего мнения в отношении патогенетических механизмов развития различных форм этого заболевания [7]. При этом существующие в настоящее время взгляды на патогенез ОП недостаточны для установления различий в клинической картине острого билиарного (ОБП) и небилиарного панкреатита (ОНБП) [5]. Многие экспериментальные и клинические работы по оценке иммунного статуса при ОП свидетельствуют о развитии вторичного иммунодефицита, который служит основой для поздних гнойных осложнений ОП [1]. Кроме того, большой интерес представляет изучение эритроцит-зависимых механизмов развития иммуносупрессии при различных патологических состояниях, в том числе и при ОП [3].

Известно, что эритроциты, помимо осуществления газотранспортной функции, принимают участие в регуляции кислотно-основного состояния и водно-солевого обмена, определяют микрореологические свойства крови и функции иммунокомпетентных клеток и т.д. [6]. Более того, степень и характер структурно-функциональных на-

рушений эритроцитов зависят от тяжести ОП [2]. Однако в зависимости от этиологии оценка изменений структурно-функциональных свойств эритроцитов не проводилась.

Исходя из этого, целью работы стала оценка изменений представительности белков и липидов мембраны эритроцитов у больных острым билиарным и небилиарным панкреатитом на фоне лечения.

Материалы и методы исследования

Под постоянным наблюдением на основании информированного согласия находилось 37 пациентов с ОБП и 35 больных с ОНБП, проходивших лечение в стационаре в МУЗ «Городская клиническая больница №4» г. Курска с 2007 по 2010 г. В качестве контроля исследовали периферическую кровь 16 здоровых доноров добровольцев.

Критериями включения в исследование были: возраст от 24 до 50 лет, верифицированный диагноз ОБП или ОНБП, лица, поступающие в стационар впервые и не подвергавшиеся ранее оперативному вмешательству, наличие сопутствующей патологии в стадии ремиссии, переносимость использованных в исследовании фармакологических препаратов, письменное согласие на участие в проводимых исследованиях. Все пациенты получали следующее лечение: инфузионная терапия со спазмолитиками и анальгетиками; антиферментные препараты – «Гордокс», «Контрикал»; антибактериальная терапия препаратами широкого спектра действия, антисекреторная терапия.

Лабораторные методы исследования крови проводились по общепринятым методикам при поступлении больных в стационар и на 15-е сутки. При оценке гемограмм за основу брались физиологические нормы, соответствующие международной системе единиц в клинических исследованиях.

Эритроциты получали из 5 мл гепаринизированной крови. Определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) [9] и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [8]. О функциональном состоянии эритроцитов судили также по накоплению малонового диальдегида (МДА).

Мембраны эритроцитов получали методом G.T. Dodge (1963). Электрофорез проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli (1970). Белки окрашивали кукурузным голубым R-250 по модифицированной методике G. Fairbanks (1971). Липиды выделяли методом тонкослойной хроматографии [4].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя средние арифметические

и стандартные ошибки. Существенность различий средних величин оценивали по критериям Стьюдента и Вилкоксона-Манна.

Результаты исследования и их обсуждение

До лечения у больных ОБП выявлено снижение представительности в мембране эритроцитов подфракций спектрина (α и β), анкирина, анионтранспортного белка, белка полосы 4.5 и повышение – белка полосы 4.1, паллидина, дематина, актина, тропомиозина, СЕГ, ССЭ и внутриклеточной концентрации МДА (табл. 1). У пациентов с ОНБП в отличие от предыдущей группы в большей степени снижена представительность α - и β -спектрина, анкирина, АТБ, достоверно выше уровень белка полосы 4.1, паллидина, дематина, актина и концентрация внутриклеточного МДА (табл. 1).

Таблица 1

Изменение представительности белков и сорбционных показателей у больных с различной этиологией острого панкреатита на фоне традиционного лечения ($M \pm m$)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Больные ОП				
		Здоровые	ОБП	ОНБП	ОБП после лечения	ОНБП после лечения
α -спектрин (1 α)	мг %	114,3 ± 8,01	98,4 ± 5,1* ¹	83,1 ± 3,6* ^{1,2}	122,8 ± 5,3* ^{2,3}	99,6 ± 7,8* ^{1,3,4}
β -спектрин (1 β)	мг %	106,6 ± 7,62	81,9 ± 4,8* ¹	68,8 ± 3,6* ^{1,2}	92,3 ± 6,9* ¹⁻³	70,6 ± 12,7* ^{1,2,4}
Анкирин (2)	мг %	113,3 ± 8,92	92,7 ± 3,8* ¹	30,6 ± 5,5* ^{1,2}	113,3 ± 3,7* ^{2,3}	39,9 ± 5,1* ^{1,2,4}
Анионтранспортный белок (3)	мг %	189,6 ± 9,4	166,9 ± 8,8* ¹	138,7 ± 3,9* ^{1,2}	178,2 ± 2,8* ^{1,3}	159,7 ± 9,5* ^{1,3,4}
Белок полосы 4.1 (4.1)	мг %	43,3 ± 4,12	56,6 ± 2,7* ¹	75,5 ± 4,1* ^{1,2}	46,8 ± 8,7* ^{2,3}	68,1 ± 8,9* ^{1,4}
Паллидин (4.2)	мг %	56,6 ± 3,91	70,6 ± 4,2* ¹	92,8 ± 5,8* ^{1,2}	71,9 ± 5,8* ^{1,3}	68,4 ± 7,1* ^{1,3}
Белок полосы 4.5 (4.5)	мг %	98,2 ± 7,45	73,6 ± 5,7* ¹	71,9 ± 2,5* ¹	92,9 ± 7,2* ^{2,3}	64,6 ± 9,2* ¹⁻⁴
Дематин (4.9)	мг %	20,1 ± 2,12	45,6 ± 2,1* ¹	64,9 ± 3,1* ^{1,2}	35,8 ± 3,7* ¹⁻³	72,9 ± 7,3* ^{1,2,4}
Актин (5)	мг %	102,1 ± 8,94	124,5 ± 7,8* ¹	168,2 ± 6,1* ^{1,2}	129,1 ± 10,4* ^{1,3}	159,0 ± 17,1* ^{1,2,4}
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (6)	мг %	37,8 ± 2,61	36,1 ± 2,8	22,6 ± 1,1* ^{1,2}	34,9 ± 7,3* ³	27,8 ± 3,2* ^{1,2,4}
Тропомиозин (7)	мг %	68,8 ± 4,63	88,9 ± 4,1* ¹	92,7 ± 5,1* ¹	78,1 ± 5,9* ^{1,2}	73,8 ± 12,5* ²⁻⁴
Глутатион-S-трансфераза (8)	мг %	49,3 ± 4,12	50,5 ± 2,9	41,5 ± 1,8* ^{1,2}	59,1 ± 6,3* ³	42,6 ± 3,0* ^{1,2,4}
СЕГ	10 ⁻¹² г/эр.	1,42 ± 0,11	1,57 ± 0,11* ¹	1,25 ± 0,05* ^{1,2}	1,38 ± 0,15* ^{2,3}	1,44 ± 0,13* ^{2,3}
ССЭ	%	32,8 ± 1,23	48,4 ± 3,89* ¹	20,5 ± 1,01* ^{1,2}	39,9 ± 2,7* ¹⁻³	19,7 ± 1,9* ¹⁻⁴
МДА	нмоль · 10 ⁶ эр.	3,54 ± 0,15	5,2 ± 0,28* ¹	6,5 ± 0,38* ^{1,2}	3,35 ± 0,44* ^{2,3}	5,67 ± 0,48* ^{1,3,4}

Примечание: здесь и в табл. 2 звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p < 0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы эти данные различны.

При этом у пациентов с ОНБП по сравнению с пациентами с ОБП и со здоровыми донорами снижен уровень глутатион-S-трансферазы, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, ССЭ и СЕГ (см. табл. 1).

Таким образом, у больных ОБП выявленные изменения свидетельствуют об уменьшении прочности и деформируемости

эритроцитарной мембраны, повышении сорбционных показателей и снижении их метаболической активности, что ускоряет процессы старения, тогда как у пациентов с ОНБП данные изменения более выражены, но при этом еще и снижены ССЭ и СЕГ [3, 6].

Основу мембраны эритроцитов образует двойной фосфолипидный слой со

встроенными в него белками. Молекулы фосфолипидов определяют и стабилизируют специфическую укладку в мембране полипептидных цепей всех интегральных и некоторых периферических белков, регулируют подвижность и активность внутримембранных транспортных, ферментных и рецепторных белков. Дезорганизация липидов мембраны, являющихся субстратом перекисного окисления и ферментативного гидросидролиза, приводит к нарушению антиоксидантного гомеостаза, снижению активности транспортных и ферментных белков и к необратимым структурно-функциональным изменениям [3].

У пациентов с ОБП при госпитализации выявлено повышение в эритроцитарной мембране уровней свободного холестерина, свободных жирных кислот, триглицеридов, фосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина, фосфатидилинозитола и снижение концентрации сфингомиелина и фосфатидилхолина, тогда как у пациентов с ОНБП – снижение уровня моно- и диглицеридов, эфиров холестерина, при нормальном содержании фосфатидилэтаноламина, лизофосфатидилхолина, фосфатидилинозитола, свободного холестерина, при более низком уровне сфингомиелинов (табл. 2).

Таблица 2

Представительность липидов в мембране эритроцитов до и после традиционного лечения больных с ОБП и ОНБП (M ± m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Больные ОП				
		Здоровые	ОБП	ОНБП	ОБП после лечения	ОНБП после лечения
Нейтральные липиды						
Холестерин	мг %	47,8 ± 1,4	58,2 ± 1,1* ¹	50,9 ± 0,33* ²	49,8 ± 0,35* ²	48,7 ± 0,15* ^{2,3}
Эфиры холестерина	мг %	46,2 ± 1,62	47,0 ± 0,4	35,4 ± 0,63* ^{1,2}	47,6 ± 0,31* ³	34,7 ± 0,38* ^{1,2,4}
Свободные жирные кислоты	мг %	2,98 ± 0,17	3,46 ± 0,17* ¹	3,44 ± 0,19* ¹	2,28 ± 0,19* ¹⁻³	2,86 ± 0,2* ^{2,4}
Моно- и диглицериды	мг %	9,6 ± 0,49	9,04 ± 0,2	7,64 ± 0,42* ^{1,2}	10,3 ± 0,51* ^{2,3}	8,83 ± 0,4* ^{3,4}
Триглицериды	мг %	14,5 ± 0,67	16,9 ± 0,23* ¹	15,1 ± 0,43	16,7 ± 0,32* ¹	15,5 ± 0,49* ^{2,4}
Фосфолипиды						
Фосфатидилхолин	мг %	23,0 ± 0,7	12,4 ± 0,1* ¹	11,5 ± 0,23* ¹	16,7 ± 0,52* ¹⁻³	11,4 ± 0,36* ^{1,4}
Фосфатидилэтаноламин	мг %	23,5 ± 0,97	26,0 ± 0,17* ¹	24,6 ± 0,13* ²	24,0 ± 0,6* ²	23,8 ± 0,2* ^{2,3}
Лизофосфатидилхолин	мг %	5,4 ± 0,17	8,6 ± 0,48* ¹	5,57 ± 0,12* ²	9,28 ± 0,46* ^{1,3}	4,73 ± 0,18* ¹⁻⁴
Фосфатидилинозитол	мг %	19,7 ± 0,69	22,0 ± 0,38* ¹	19,8 ± 0,1* ²	24,2 ± 0,37* ¹⁻³	22,0 ± 0,2* ^{1,3}
Сфингомиелин	мг %	11,0 ± 0,52	9,6 ± 0,22* ¹	8,97 ± 0,1* ^{1,2}	10,6 ± 0,11* ^{2,3}	9,1 ± 0,46* ^{1,4}

Таким образом, у больных ОБП и ОНБП в мембране эритроцитов также 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 обуславливает снижение вязкости липидной фазы мембраны, тогда как низкий уровень фосфатидилхолина снижает проницаемость мембраны и уменьшает метаболизм холестерина, что приводит к насыщению им мембран эритроцитов, снижает латеральную диффузию липидов и белков, тем самым повышая сорбционные свойства всей мембраны (ССЭ и СЕГ), что наблюдается при ОБП, так как эта форма ОП сопровождается экстренностью («внезапностью») патологии, так как ОП обусловлен в первую очередь холодохолитиазом и/или блоком большого

сосочка двенадцатиперстной кишки камнем [5]. У пациентов с ОНБП, в отличие от предыдущей группы, уровень фосфолипидов остается на уровне нормы, но снижение концентрации эфиров холестерина, эфиров жирных кислот и моно- и диглицеридов свидетельствует об активации липолитических процессов, что связано со старением эритроцитов и угнетением их основной функции – газотранспортной [3, 10]. Эти изменения имеют непосредственную связь с анамнезом заболевания. Длительный прием алкоголя, жирной и/или острой пищи, токсинов и др., вызывает развитие хронического повышения процессов перекисного окисления липидов, как внутри клетки, так и в ее мембране, что вызывает увеличение внутриклеточного содержания МДА и приводит к «вымыванию» холестерина из фосфолипидного слоя эритроцитарной мембраны, уменьшению ее липидной части за счет эфиров холестерина, моно- и диглицеридов, поэтому при достижении некоторого крити-

ческого уровня белково-липидного соотношения в эритроцитарной мембране происходит потеря периферических и частично интегрированных белков, что и приводит к снижению ССЭ и СЕГ [10].

Проведенное традиционное лечение у пациентов с ОБП позволило нормализовать в мембране эритроцитов уровень анкирина, белка полосы 4.1, 4.5, СЕГ и концентрацию внутри клеток МДА, тогда как у пациентов с ОНБП нормализовало достоверно меньшее количество показателей белкового спектра – уровень тропомиозина и СЕГ (см. табл. 1). При исследовании изменения представительности липидного спектра в мембране эритроцитов у пациентов с ОБП на фоне лечения установлена нормализация в мембране красных клеток крови количества холестерина, фосфатидилэтаноламина, сфингомиелина и корригирующие эффекты его на уровень свободных жирных кислот и изученных фосфолипидов. У больных с ОНБП в мембране красных клеток крови нормализовался уровень свободных жирных кислот, моно- и диглицеридов (см. табл. 2).

Таким образом, у больных ОП выявлены изменения представительности в белковом и липидном спектре мембран эритроцитов, более выраженные и несколько отличные 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 ОНБП. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли структурно-функциональных свойств красных клеток крови в патогенезе ОП и необходимости коррекции при данной патологии, особенно при ОНБП, представительности белков и липидов в эритроцитарной мембране с использованием дополнительных способов фармакологического воздействия: использования мембранопротекторов и антиоксидантов.

Список литературы

1. Винник Ю.С., Миллер С.В., Теплякова О.В. Совершенствование дифференциальной диагностики и прогнозирования течения деструктивных форм острого панкреатита // Вестн. хирург. им. И.И. Грекова. – 2009. – Т. 168, №6. – С. 16–20.
2. Гаврилук В.П., Назаренко П.М., Конопля А.И. Структурно-функциональные нарушения эритроцитов и их коррекция у больных с легким и тяжелым течением острого панкреатита // Человек и его здоровье. – Курск, 2007. – № 3. – С. 29–37.
3. Конопля А.И. Взаимосвязь структуры и функции эритроцитов с иммунным гомеостазом. – Курск: КГМУ, 2008. – 40 с.
4. Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Ефремова С.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Лаб. дело. – 1984. – № 4. – С. 205–206.
5. Назаренко П.М., Канищев Ю.В., Назаренко Д.П. Хирургические и эндоскопические методы лечения заболеваний большого сосочка двенадцатиперстной кишки и их клиничко-анатомическое обоснование. – Курск, 2005. – 143 с.
6. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В. Структурная дезорганизация мембраны эритроцитов как универсальная типовая реакция целостного организма при болезнях дисрегуляции. Дисрегуляционная патология / под ред. Г.Н. Крыжановского. – М.: Медицина, 2002. – С. 395–305.
7. Хирургический сепсис: клиничко-патологоанатомические аспекты / В.С. Савельев, Б.Р. Гельфанд, О.Д. Мишнев, А.И. Щеголев // Архив патол. – 2007. – Т. 69, №4. – С. 59–63.
8. Семко Г.А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопозе // Укр. биохим. журн. – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 113–118.
9. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В. Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лаб. дело. – 1988. – № 9. – С. 22–24.
10. Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность // Успехи современ. биол. – 2010. – Т. 130, №6. – С. 587–602.

Рецензенты:

Быстрова Н.А., д.м.н., профессор кафедры биохимии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет», Минздравсоцразвития РФ, г. Курск;

Афанасьев Ю.И., д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней №1 ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Министерства образования и науки РФ, г. Белгород.

Работа поступила в редакцию 18.10.2011.