

РОЛЬ ЛИПИДОВ МЕМБРАН В ФОРМИРОВАНИИ ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ СОЛИДНЫХ ОПУХОЛЯХ И ПСОРИАЗЕ

Лариса Михайловна Обухова^{1*}, Елена Ивановна Ерлыкина¹, Татьяна Викторовна Копытова¹,
Мария Николаевна Макарова¹, Наталья Александровна Щелчкова¹,
Екатерина Сергеевна Бесчастнова²

¹Нижегородская государственная медицинская академия, г. Нижний Новгород, Россия;

²Приволжский окружной медицинский центр Федерального медико-биологического агентства России,
г. Нижний Новгород, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015764

Цель. Анализ электрофоретической подвижности эритроцитов у пациентов при заболеваниях, обусловленных нарушением пролиферации клеток, и её взаимосвязи с липидным спектром эритроцитарных мембран.

Методы. Изучена кровь 42 больных злокачественными новообразованиями эпителиальных тканей (раком кишечника, почки, простаты, мочевого пузыря, шейки матки) и 16 больных дерматозами. Контрольную группу составили 20 практически здоровых человек. Электрофоретическую подвижность эритроцитов оценивали методом микроэлектрофореза. Содержание фракций липидов в эритроцитах определяли методом одномерной тонко-слойной хроматографии.

Результаты. У пациентов со злокачественными новообразованиями эпителиальных тканей и дерматозами, ассоциированными с нарушенными процессами клеточной пролиферации (псориазом), выявлено снижение электрофоретической подвижности эритроцитов на 59 и 60% соответственно (более чем в 2 раза), а при дерматозах воспалительного генеза снижение было менее выраженным (на 30%). Содержание заряженных фосфолипидов эритроцитарных мембран при онкологических заболеваниях и псориазе менялось сходным образом: статистически значимое снижение уровня сфингомиелинов при отсутствии отличий по содержанию фосфатидилэтанолamines и фосфатидилхолинов. Выявлены разнонаправленные статистически значимые изменения в содержании лизофосфатидилхолинов в зависимости от стадии онкологического заболевания при их двукратном снижении при псориазе. Уровень холестерина, диацилглицеролов, свободных жирных кислот в мембранах эритроцитов при онкологических заболеваниях и псориазе менялся разнонаправленно.

Вывод. При заболеваниях, обусловленных активацией клеточной пролиферации, электрофоретическая подвижность эритроцитов снижается более чем на 50%; меняющиеся при нарушениях фосфолипидного спектра мембран кинетические характеристики эритроцитов могут быть использованы для диагностики состояний патологической пролиферации, в том числе злокачественных новообразований.

Ключевые слова: электрофоретическая подвижность эритроцитов, онкологические заболевания, псориаз, липидный спектр мембран.

THE ROLE OF MEMBRANE LIPIDS IN FORMING THE ELECTROKINETIC PROPERTIES OF RED BLOOD CELLS IN SOLID TUMORS AND PSORIASIS

L.M. Obukhova¹, E.I. Erlykina¹, T.V. Kopytova¹, M.N. Makarova¹, N.A. Shchelchkova¹, E.S. Beschastnova²

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod, Russia;

²Volga District Medical Centre under Federal Medical and Biological Agency, Nizhny Novgorod, Russia

Aim. Analysis of the electrophoretic mobility of red blood cells in patients with the diseases caused by increased cell proliferation activity, and its relationship with the lipid spectrum of erythrocyte membranes.

Methods. The blood of 42 patients with malignant tumors of epithelial tissues (colon, kidney, prostate, urine bladder and cervical cancer) and 16 patients with skin diseases was studied. The control group consisted of 20 healthy individuals. Electrophoretic mobility of red blood cells was assessed by microelectrophoresis. Lipid fractions levels in erythrocytes was determined by one-dimensional thin layer chromatography.

Results. Over than two-fold decrease of electrophoretic mobility of erythrocytes was observed in patients with malignant tumors of epithelial tissues and skin diseases associated with cell proliferation processes (psoriasis) – by 59 and 60%, respectively. In inflammatory skin diseases (microbial eczema), the decrease was less pronounced (30%). The contents of charged phospholipid in erythrocyte membranes in case of cancer and psoriasis has changed in a similar way: a significant reduction in sphingomyelin level in the absence of significant differences in phosphatidylethanolamine and phosphatidylcholine levels. Multidirectional statistically significant changes in the contents of lysophosphatidylcholine were revealed depending on the stage of cancer, their level was decreased two-fold in case of psoriasis. The changes of cholesterol, diacylglycerols, free fatty acids levels in the membranes of red blood cells in case of cancer and psoriasis were divergent.

Conclusion. In diseases caused by cell proliferation activation, electrophoretic mobility of erythrocytes is reduced by more than 50%. Kinetic characteristic of erythrocytes may be used for detecting the conditions of pathologic cell proliferation, including malignant tumors, since they alter in cases of phospholipid membranes lipid spectrum disorders.

Keywords: electrophoretic mobility of red blood cells, malignancies, psoriasis, lipid spectrum of membranes.

Одним из способов раннего выявления злокачественных новообразований служат скрининговые исследования, применение

которых приводит к снижению смертности [8]. Однако методы диагностики для разных типов онкологических заболеваний существенно различаются.

Электрофоретическая подвижность эри-

Электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) у пациентов при различных стадиях рака и дерматозах

Показатель	Контроль	Злокачественные новообразования эпителиальных тканей				Дерматозы	
		I стадия	II стадия	III стадия	IV стадия	Псориаз	Дерматозы воспалительного генеза
ЭФПЭ, мкм-см/В-с	1,75±0,04	0,62±0,024*	0,69±0,044*	0,86±0,29*	1,11±0,37*	0,69±0,09*	1,17±0,15*

Примечание: * $p < 0,05$ с показателями контрольной группы.

троцитов (ЭФПЭ) – интегральный показатель морфофункционального состояния мембран, комплексно характеризующий гомеостаз организма [4]. Для корректного использования ЭФПЭ с целью скрининговой диагностики рака необходимо представлять, чем вызвано изменение данного параметра при исследуемой патологии.

Механизм изменения электроотрицательности эритроцитов при злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей может быть связан с перераспределением заряда мембраны вследствие изменения липидной составляющей мембраны [5]. Поскольку нарушение пролиферативной активности клеток лежит в основе патогенеза не только злокачественных новообразований, но и некоторых дерматозов, например псориаза [1], сравнение электрокинетических характеристик и липидного спектра мембран эритроцитов было бы показательно с точки зрения как диагностики, так и исследования молекулярных механизмов формирования этих заболеваний.

Целью работы стал анализ ЭФПЭ у пациентов при заболеваниях, обусловленных повышением пролиферативной активности клеток, и её взаимосвязи с липидным спектром эритроцитарных мембран.

Изучена кровь 42 больных злокачественными новообразованиями эпителиальных тканей, ранее не подвергавшихся противоопухолевому лечению, и 35 больных дерматозами различной этиологии. Контрольную группу составили 20 практически здоровых человек. Рак кишечника диагностирован у 14 (33,3%), почки – у 10 (23,8%), предстательной железы – у 8 (19,1%), мочевого пузыря – у 5 (11,9%), шейки матки – у 5 (11,9%) пациентов.

Был проведён анализ ЭФПЭ методом микроэлектрофореза [7] в горизонтальной микрокамере при силе тока 12–15 мА. Содержание фракций липидов в эритроцитах крови определяли методом одномерной тонкослойной хроматографии на пластинах («Sorbifil», Россия). Статистическая обработ-

ка данных осуществлена с использованием пакета Biostat 4.3.

Изучение ЭФПЭ крови при злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей и дерматозах выявило её статистически значимое снижение относительно здоровых людей (табл. 1). У пациентов с онкологическими заболеваниями наблюдалось снижение ЭФПЭ более чем в 2 раза (на 59%, $0,72 \pm 0,12$ мкм-см/В-с). У пациентов с дерматозами, ассоциированными с процессами клеточной пролиферации (псориазом), выявлено такое же значительное снижение ЭФПЭ (на 60%). При анализе ЭФПЭ у пациентов с дерматозами негиперпролиферативного генеза (склеродермией, экземой) изменение было выражено менее значительно (см. табл. 1).

Проведён анализ ЭФПЭ в зависимости от стадии онкологического заболевания. Выявлено резкое снижение ЭФПЭ на I и II стадиях онкологического заболевания и менее выраженное, но статистически значимое отличие от уровня здоровых людей при терминальных стадиях опухолей (см. табл. 1). При оценке фосфолипидного профиля обнаружено значимое снижение уровня сфингомиелинов в мембранах эритроцитов по сравнению с практически здоровыми людьми при раке и псориазе при отсутствии статистически значимых отличий по содержанию фосфатидилэтаноламинов (рис. 1).

При раке и псориазе липидный спектр эритроцитарных мембран характеризовался сниженным содержанием трудно окисляемых фосфолипидов (сфингомиелинов) и более высоким показателем легко окисляемых фракций (фосфатидилэтаноламинов). Сфингомиелин участвует в реализации внешних воздействий на клетку и процессах межклеточного взаимодействия [10], поэтому снижение его содержания нарушает восприятие внешних сигналов.

Дальнейший анализ фосфолипидного спектра эритроцитарных мембран показал отсутствие изменений в уровне фосфатидил-

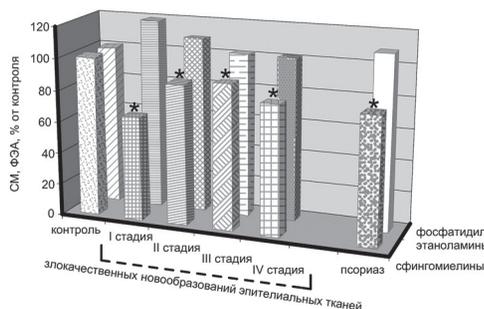


Рис. 1. Уровень сфингомиелинов (СМ) и фосфатидилэтаноламинов (ФЭА) мембран эритроцитов при злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей и псориазе

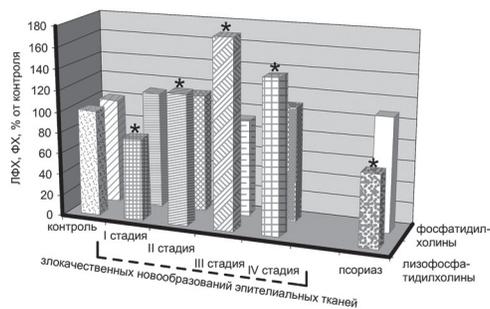


Рис. 2. Уровень фосфатидилхолинов (ФХ) и лизофосфатидилхолинов (ЛФХ) мембран эритроцитов при злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей и псориазе

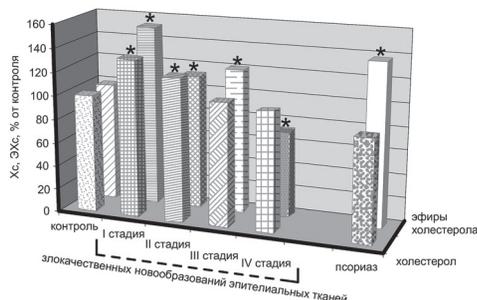


Рис. 3. Уровень свободного (Xс) и этерифицированного (ЭХс) холестерина мембран эритроцитов при злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей и псориазе

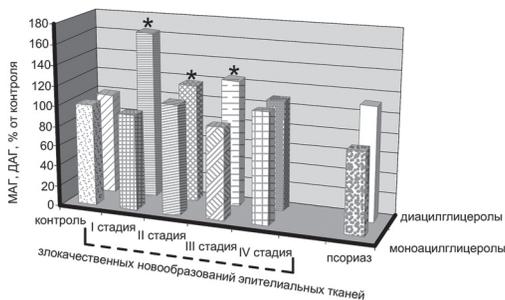


Рис. 4. Содержание моноацилглицеролов (МАГ) и диацилглицеролов (ДАГ) мембран эритроцитов при злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей и псориазе

холинов эритроцитарных мембран и статистически значимые нарушения содержания лизофосфатидилхолинов как при раке, так и при псориазе (рис. 2).

Диссоциация кислотных и основных групп компонентов поверхности мембраны создаёт «мозаику» отрицательных и положительных зарядов, но вследствие преобладания кислотных группировок эритроцит несёт отрицательный заряд. В формировании отрицательного заряда наружной поверхности мембраны эритроцита участвуют в том числе и кислые фосфолипиды [11].

Если на I стадии злокачественных новообразований и при псориазе уровень лизофосфатидилхолинов падает, то на последующих (II, III и IV стадиях) его содержание статистически значимо возрастает. Для обсуждения данных результатов необходимо учитывать содержание других фракций липидов в эритроцитарных мембранах.

При начальных стадиях онкологических заболеваний происходит статистически значимое увеличение содержания холестерина в мембранах эритроцитов (рис. 3). При терминальных стадиях статистически значимых отличий по этому показателю не выявлено. При псориазе уровень холестерина эритроцитарных мембран имел тенденцию

к снижению, что согласуется с литературными данными [3]. При этом наблюдался рост содержания эфиров холестерина в эритроцитарных мембранах при I, II и III стадиях злокачественных новообразований эпителиальных тканей, а при IV стадии, напротив, происходило значимое снижение.

Если учесть выявленный рост содержания лизофосфатидилхолинов в эритроцитарных мембранах при онкологических заболеваниях, то с большой долей вероятности можно сделать заключение об увеличении активности фермента лецитинхолестерацилтрансферазы, участвующего в этерификации холестерина, при данной патологии. При псориазе такой зависимости не выявлено. Лизофосфатидилхолин также образуется при гидролизе фосфатидилхолина фосфолипазой A₂. Образующаяся при этом жирная кислота может использоваться для синтеза простагландинов и лейкотриенов [9].

Во всех исследованных группах не обнаружено статистически значимых отличий от практически здоровых людей минорного липидного компонента цитоплазматических мембран эритроцитов – моноацилглицеролов. Напротив, при I, II и III стадиях рака был выявлен значительный рост уровня диацилглицеролов (рис. 4). Отсутствие

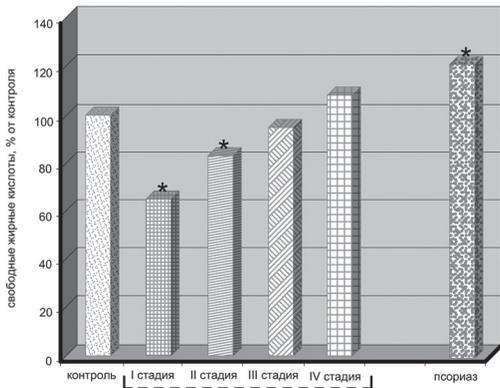


Рис. 5. Содержание свободных жирных кислот мембран эритроцитов при заболеваниях, обусловленных повышением пролиферативной активности клеток (злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей, псориазе)

липид-синтезирующей активности в эритроцитах позволяет причислять эти вещества к продуктам деградации липидов мембран. Накопление ацилглицеролов свидетельствует об активации липолитических процессов, связанных со старением эритроцитов [2]. Поскольку диацилглицеролы играют роль мессенджеров в передаче гормонального сигнала, то развитие нарушения регуляции может приводить как к апоптозу, так и к гиперпролиферации.

При начальных стадиях злокачественных новообразований эпителиальных тканей происходит снижение уровня свободных жирных кислот (по сравнению с практически здоровыми людьми) на 35 и 17% соответственно, однако при терминальных стадиях рака наблюдалась тенденция к их росту. При псориазе содержание свободных жирных кислот в мембранах эритроцитов было статистически значимо выше, чем в контрольной группе (рис. 5).

Деградация ацилглицеролов и фосфолипидов одновременно сопровождается освобождением значительного количества жирных кислот, служащих в том числе субстратами для синтеза биологически активных соединений — медиаторов иммунного ответа (простагландинов, лейкотриенов, тромбосанов) [6, 12].

ВЫВОДЫ

1. При заболеваниях, обусловленных активацией клеточной пролиферации (злокачественных новообразованиях эпителиальных тканей и псориазе), электрофоретическая подвижность эритроцитов резко снижается (более чем на 50%).

2. Изменение электрокинетических свойств эритроцитов при данных заболеваниях может быть обусловлено снижением уровня некоторых фосфолипидов, имеющих отрицательный заряд.

3. Меняющиеся при нарушении фосфолипидного спектра мембран кинетические характеристики эритроцитов могут быть использованы для диагностики состояний патологической пролиферации, в том числе злокачественных новообразований.

Работа осуществлена при поддержке гранта Нижегородской области в сфере науки, технологий и техники за 2015 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бакулев А.Л., Шагова Ю.В., Козлова И.В. Псориаз как системная патология // Саратов. науч.-мед. ж. — 2008. — Т. 4, №1. — С. 13-20. [Bakulev A.L., Shagova Yu.V., Kozlova I.V. Psoriasis as system pathology. *Saratovskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2008; 4 (1): 13-20. (In Russ.)]
2. Боровская М.К., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г. и др. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и её изменения при патологиях разного генеза // Бюлл. ВС НЦ СО РАМН. — 2010. — Т. 73, №3. — С. 334-354. [Borovskaya M.K., Kuznetsov E.E., Gorokhova V.G. Structural and functional characteristics of membrane's erythrocyte and its change at pathologies of various genesis. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2010; 73 (3): 334-354. (In Russ.)]
3. Бутов Ю.С., Хрусталева Е.А., Фёдорова Е.Г. Влияние липидстабилизирующей терапии на показатели иммунной реактивности и липидного обмена у больных псориазом // Рос. ж. кожн. и вен. болезней. — 1999. — №6. — С. 24-26. [Butov Yu.S., Khrustaleva E.A., Fedorova E.G. The influence of lipid-stabilizing treatment on the indicators of immune reactivity and lipid metabolism in patients with psoriasis. *Rossiyskiy zhurnal kozhnykh i venericheskikh bolezney*. 1999; 6: 24-26. (In Russ.)]
4. Крылов В.Н., Дерюгина А.В. Типовые изменения электрофоретической подвижности эритроцитов при стрессовых воздействиях // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2005. — Т. 139, №4. — С. 364-366. [Krylov V.N., Deryugina A.V. Typical changes in electrophoretic mobility of erythrocytes under stress conditions. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2005; 139 (4): 364-366. (In Russ.)]
5. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. и др. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы // Бюлл. сибир. мед. — 2006. — Т. 5, №2. — С. 62-69. [Novitskiy V.V., Ryazantseva N.V., Stepovaya Ye.A. et al. Molecular disturbances of erythrocytes membrane during pathology of different genesis are the typical reaction of the organism: contours of the problem. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2006; 5 (2): 62-69. (In Russ.)]
6. Титов В.Н., Лисицын Д.М. Жирные кислоты. Физическая химия, биология и медицина. — М., Тверь: Триада, 2006. — 672 с. [Titov V.N., Lisitsyn D.M. *Zhirnyye kisloty. Fizicheskaya khimiya, biologiya i meditsina*. (Fatty acids. Physical chemistry, biology and medicine.) Moscow, Tver: Triada, 2006; 672 p. (In Russ.)]
7. Харамоненко С.С., Рактянская А.А. Электрофорез клеток крови в норме и при патологии. —

Минск: Беларусь, 1974. — 144 с. [Kharamonenko S.S., Rakityanskaya A.A. *Elektroforez kletok krvi v norme i pri patologii*. (Electrophoresis of blood cells in norm and disease.) Minsk: Belarus'. 1974; 144 p. (In Russ.)]

8. *Bessho F.* Effects of mass screening on age specific incidence of neuroblastoma // *Int. J. Cancer*. — 1996. — Vol. 67, N 4. — P. 520-522.

9. *Claria J., Arroyo V.* Prostaglandins and other cyclooxygenase-dependent arachidonic acid metabolites and the kidney in liver disease // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* — 2003. — Vol. 72, N 1-2. — P. 19-33.

10. *Merrill A.H.Jr, Jones D.D.* An update of the

enzymology and regulation of sphingomyelin metabolism // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1990. — Vol. 1044. — P. 1-12.

11. *Petelska A.D., Figaszewski Z.A.* Effect of pH on the interfacial tension of bilayer lipid membrane formed from phosphatidylcholine or phosphatidylserine // *Biochem., Biophys. Acta.* — 2002. — Vol. 1561. — P. 131-146.

12. *Torkhovskaya T.V., Ipatova O.M., Medvedeva N.V. et al.* Membrane proteins and phospholipids as effectors of reverse cholesterol transport // *Biochemistry (Moscow). Supplement Series B: Biomed. Chem.* — 2006. — Vol. 52, N 2. — P. 113-123.

УДК 616.36-002.4008.64: 616.36-78: 615.38

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЛЬБУМИНОВОГО ДИАЛИЗА ПРИ ОСТРОЙ ПЕЧЁНОЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОБРАЗЦЕ АППАРАТА «БИОИСКУССТВЕННАЯ ПЕЧЕНЬ»

Елена Евгеньевна Полевщикова*

Южно-Уральский государственный медицинский университет, г. Челябинск, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015768

Цель. Клинические испытания эффективности альбуминового диализа при лечении больных с острой печёночной недостаточностью различной этиологии на экспериментальном образце аппарата «Биоискусственная печень».

Методы. Клиническое исследование метода альбуминового диализа на экспериментальном образце аппарата «Биоискусственная печень» проведено на 20 пациентах в возрасте 22–68 лет с острой печёночной недостаточностью различной этиологии. Аппарат «Биоискусственная печень» состоял из перфузионного блока, диализатора, диализного контура с раствором альбумина и колонки с угольным гемосорбентом. В качестве диализирующего раствора использовали 10% раствор донорского человеческого альбумина в режиме рециркуляции. Для восстановления акцепторной способности альбумин подвергался карбоперфузии через углеродный гемосорбент. Длительность процедуры составила 3 ч, контроль биохимических маркёров повреждения печени проводили до и после сеанса.

Результаты. В ходе исследования было выявлено статистически значимое снижение биохимических маркёров цитолиза и холестаза: активности аминотрансфераз, щелочной фосфатазы и содержания билирубина. Также наблюдали статистически значимое уменьшение уровня аммиака, одного из основных клинико-лабораторных показателей, характеризующих тяжесть энцефалопатии. Улучшение состояния синтетической функции печени отражало статистически значимое повышение концентрации глюкозы. После сеанса отмечалась стабилизация состояния больных, уменьшались проявления энцефалопатии. Побочные явления отсутствовали.

Вывод. Проведение альбуминового диализа у пациентов с острой печёночной недостаточностью на аппарате «Биоискусственная печень» сопровождалось улучшением их функционального состояния, это даёт основание использовать данный метод лечения острой печёночной недостаточности в отделениях интенсивной терапии.

Ключевые слова: острая печёночная недостаточность, альбуминовый диализ, биоискусственная печень.

THE STUDY OF ALBUMIN DIALYSIS EFFICIENCY IN ACUTE LIVER FAILURE USING THE «BIOARTIFICIAL LIVER» DEVICE

E.E. Polevshchikova

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia

Aim. Clinical testing of albumin dialysis method in patients with acute liver failure of different etiologies on the experimental sample of the «bioartificial liver» device.

Methods. Clinical assessment of treatment using the «bioartificial liver» device was conducted on 20 patients aged 22–68 years old who had acute liver failure of different etiology. The «bioartificial liver» device consisted of a perfusion unit, the dialyzer, dialysis circuit with albumin solution and carbon haemosorbent mode. A 10% donor human albumin solution was used as the dialysis fluid in recirculation mode. For restoration of the accepting ability albumin was exposed to perfusion through the carbonic hemosorbent. Duration of the treatment was 3 hours, control of liver damage biochemical markers was performed before and after the session.

Results. There was a statistically significant reduction in biochemical markers of cytolysis and cholestasis: transaminases, alkaline phosphatase and bilirubin levels. We also observed a statistically significant reduction of ammonia level, which is one of the main clinical and laboratory signs characterizing the severity of encephalopathy. Improvement of liver synthetic function reflected a statistically significant increase in glucose level. Clinical stabilization as well as reduction of encephalopathy clinical signs were observed after the procedure. No side effects were noticed.

Conclusion. Implementation of albumin dialysis in patients with acute liver failure using the «bioartificial liver» device was accompanied by an improvement of their functional state. This gives reason to use this method for the treatment of acute liver failure in intensive care units.

Keywords: acute liver failure, albumin dialysis, bioartificial liver.