
ЛИПИДНЫЙ СОСТАВ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ ПРИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

**А.П. Власов, Д.А. Висаитов, В.А. Трофимов,
Н.Ю. Лещанкина, М.В. Пьянов**

Кафедры факультетской хирургии, генетики, госпитальной
терапии, педагогической психологии и педагогики
ГОУВПО «Мордовский госуниверситет им. Н.П. Огарева»
ул. Большевикская, 68, Саранск, Россия, 430000

В.Ф. Мустьяца

Кафедра патологической физиологии
ГОУВПО «Российский университет дружбы народов»
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

При эндогенной интоксикации спектр липидов плазмы и форменных элементов крови специфически изменяется. Патологический комплекс липидных изменений выступает одной из важнейших причин дисфункций клеток крови, возникающих при эндогенной интоксикации, и нуждается в своевременной коррекции.

Ключевые слова: эндогенная интоксикация, форменные элементы крови, липиды.

В клетках липиды представлены обширным набором молекул, различающихся физико-химическими свойствами, и формируют биомембраны [5]. Липиды придают биомембранам ряд важнейших свойств, обуславливающих физиологическую активность клеток. В то же время липиды являются относительно лабильными молекулами, вовлеченными в метаболические процессы, перекисное окисление. На состав клеточных липидов могут влиять различные эндогенные и экзогенные факторы. Наличие различных механизмов изменений липидов определяет их регуляторные влияния на физиологические процессы в организме в норме и может выступать отягощающим фактором при патологии [4, 8].

В настоящей работе приводятся данные, характеризующие комплекс патологических изменений липидов, характерных для эндогенной интоксикации, рассматривается их роль в формировании функционального дисбаланса клеток крови, способствующего утяжелению патологического процесса.

Методика исследования. Исследовали плазму, эритроциты, тромбоциты и лимфоциты крови доноров ($n = 15$) и больных перитонитом аппендикулярного генеза ($n = 44$). Эффективную (ЭКА) и общую (ОКА) концентрацию альбумина в сыворотке крови определяли флуоресцентным методом. Затем рассчитывали индекс токсичности плазмы (ИТ), отражающий степень заполнения тканевых центров различными токсическими веществами по формуле $ИТ = ОКА/ЭКА - 1$ [3] и резерв связывания альбумина (РСА), отражающий долю центров альбумина в сыворотке, связывание с которыми не заблокировано метаболитами или токсинами по формуле $РСА = ЭКА/ОКА$. Эритроциты и тромбоциты получали из крови

методом дифференциального центрифугирования. Лимфоциты выделяли из гепаринизированной крови в градиенте плотности Ficoll-Paque (плотность 1,077 г/л). Липиды экстрагировали смесью хлороформ-метанол (2 : 1, о/о) и фракционировали в тонких слоях силикагеля (Merk) [3]. Фосфолипиды фракционировали однородно в системе растворителей хлороформ/метанол/ледяная уксусная кислота/вода (60 : 50 : 1 : 4, по объему). Нейтральные липиды разделяли в системе гептан/эфир/уксусная кислота (60 : 40 : 2, о/о). Количество липидов оценивали денситометрическим методом. Хемилюминесценцию плазмы крови, индуцируемую перекисью водорода, регистрировали с помощью биохемилуменометра БХЛ-06М. Определяли индекс деформабельности и неспецифическую проницаемость эритроцитов [9]. АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов регистрировали оптическим методом с помощью двулучевого агрегометра THROMLITE 1006. Лимфоциты культивировали по модифицированному методу Мурхеда, окрашивая метафазные хромосомы краской Романовского—Гимза. О достоверности различий между группами судили при помощи критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Один из важнейших показателей эндогенной интоксикации является изменение ее гидрофильного компонента, который оценивается по состоянию сывороточного альбумина, обладающего важной функцией образования легко диссоциирующих связей с молекулами различных соединений, в том числе эндогенных токсинов [6]. У больных перитонитом установлено снижение общей и эффективной концентрации альбумина, уменьшение резерва связывания альбумина, повышение индекса токсичности плазмы (табл. 1).

Таблица 1

Некоторые показатели эндогенной интоксикации при остром перитоните (M ± m)

Показатель	Норма	Послеоперационный период		
		1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Общая концентрация альбумина, г/л	52,20 ± 0,77	35,40 ± 1,21*	38,31 ± 1,12*	44,91 ± 2,47*
Эффективная концентрация альбумина, г/л	42,30 ± 1,19	23,60 ± 1,35*	26,90 ± 1,53*	31,14 ± 1,77*
Резерв связывания альбумина, усл. ед.	0,81 ± 0,04	0,68 ± 0,03*	0,57 ± 0,03*	0,70 ± 0,03*
Индекс токсичности плазмы крови, усл. ед.	0,23 ± 0,01	0,55 ± 0,03*	0,89 ± 0,05*	0,62 ± 0,04*

Примечание: * — достоверность отличия по отношению к норме ($p < 0,05$)

Установлено, что при эндогенной интоксикации в спектре липидов плазмы крови по сравнению с нормой происходят качественные и количественные изменения (табл. 2).

В плазме крови в динамике патологического процесса регистрировали по сравнению с нормой снижение удельного веса фосфатидилсерина (ФС) на 56,2—63,3%, а также фосфатидилхолина (ФХ) и суммарных фосфолипидов (ФЛ). В то же время отмечали повышение доли лизофосфатидилхолина (ЛФХ) в несколько раз, фосфатидилэтаноламина (ФЭА) — на 40,7—53,8%, свободных жирных кислот (СЖК) — на 20,9—38,9%, сфингомиелина (СФМ) — на 22,7—19,3% ($p < 0,05$).

Таблица 2

**Содержание липидов (в %) в плазме крови и в форменных элементах крови
в норме и эндогенной интоксикации (3-и сутки послеоперационного периода)**

Липиды	Плазма крови	Эритроциты	Тромбоциты	Лимфоциты
ЭХС	$23,2 \pm 1,2$	$7,8 \pm 0,9$	$7,0 \pm 1,2$	$27,4 \pm 3,6$
	$20,8 \pm 1,5$	$14,5 \pm 1,1$	$11,4 \pm 1,8$	$18,9 \pm 1,3$
ТГЛ	$16,1 \pm 1,7$	$7,4 \pm 0,7$	$5,7 \pm 0,6$	$7,1 \pm 1,4$
	$16,8 \pm 0,9$	$8,5 \pm 0,7$	$6,0 \pm 0,7$	$15,0 \pm 1,2$
СЖК	$7,8 \pm 0,9$	$4,4 \pm 0,4$	$4,4 \pm 0,6$	$7,5 \pm 1,0$
	$9,4 \pm 0,7$	$4,8 \pm 0,5$	$7,4 \pm 0,2$	$9,1 \pm 0,7$
ХС	$19,1 \pm 0,8$	$35,2 \pm 1,0$	$24,5 \pm 0,7$	$19,6 \pm 1,2$
	$21,2 \pm 0,68$	$31,4 \pm 0,9$	$32,3 \pm 1,0$	$19,0 \pm 0,81$
ФЛ	$33,6 \pm 2,0$	$44,8 \pm 1,0$	$54,5 \pm 2,1$	$36,3 \pm 4,1$
	$31,0 \pm 1,9$	$40,4 \pm 1,2$	$39,0 \pm 1,1$	$39,0 \pm 1,7$
ФЭА	$11,6 \pm 1,6$	$34,9 \pm 1,6$	$24,1 \pm 1,7$	$23,0 \pm 2,0$
	$16,3 \pm 0,8$	$23,9 \pm 1,1$	$30,1 \pm 1,1$	$7,8 \pm 0,5$
ФИ	—	$4,1 \pm 0,4$	$7,4 \pm 0,6$	$2,3 \pm 0,7$
		$1,98 \pm 0,2$	$4,3 \pm 0,4$	$4,7 \pm 0,6$
ФС	$13,5 \pm 1,6$	$6,2 \pm 1,0$	$9,4 \pm 0,2$	$10,4 \pm 1,1$
	$5,0 \pm 0,6$	$8,2 \pm 0,8$	$4,9 \pm 0,3$	$17,9 \pm 0,8$
ФХ	$53,1 \pm 1,7$	$37,7 \pm 1,1$	$35,6 \pm 1,2$	$42,7 \pm 1,5$
	$48,9 \pm 0,8$	$35,8 \pm 0,7$	$30,6 \pm 1,6$	$48,3 \pm 1,1$
СФМ	$21,4 \pm 1,0$	$20,7 \pm 1,3$	$22,5 \pm 2,4$	$21,6 \pm 1,1$
	$26,2 \pm 0,5$	$27,8 \pm 0,7$	$21,9 \pm 1,3$	$21,2 \pm 0,6$
ЛФХ	Следы	Следы	$1,1 \pm 0,1$	Следы
	$3,2 \pm 0,5$	$2,7 \pm 0,4$	$7,4 \pm 0,7$	$2,2 \pm 0,5$

Примечание: числитель — норма, знаменатель — патология.

Среди факторов изменения спектра липидов при эндогенной интоксикации, для которого характерен высокий уровень свободнорадикальных процессов, доминирующее положение могут занимать процессы перекисидации липидов (табл. 3).

Таблица 3

**Активность процессов перекисидации липидов плазмы крови
при эндогенной интоксикации по данным хемилюминесценции ($M \pm m$)**

Показатель	Норма	Послеоперационный период		
		1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
S	$3,68 \pm 0,20$	$10,56 \pm 0,58^*$	$9,12 \pm 0,50^*$	$7,05 \pm 0,39^*$
I max	$1,23 \pm 0,07$	$2,30 \pm 0,13^*$	$2,16 \pm 0,12^*$	$1,96 \pm 0,11^*$
ST max	$0,94 \pm 0,04$	$1,84 \pm 0,08^*$	$1,79 \pm 0,08^*$	$1,53 \pm 0,07^*$
tg 1	$2,01 \pm 0,12$	$3,44 \pm 0,20^*$	$3,36 \pm 0,21^*$	$2,90 \pm 0,17^*$
tg 2	$0,49 \pm 0,03$	$0,60 \pm 0,05^*$	$0,54 \pm 0,04$	$0,52 \pm 0,04$

Примечание: * — достоверность отличия по отношению к норме ($p < 0,05$), S — светосумма, I max — значение максимальной интенсивности сигнала, ST max — светосумма до момента достижения максимальной интенсивности, tg 1 — тангенс угла максимального нарастания сигнала до достижения значения максимальной интенсивности, tg 2 — тангенс угла максимального убывания сигнала после достижения значения максимальной интенсивности.

В липидах эритроцитов при эндогенной интоксикации наиболее характерными изменениями были повышение содержания эфиров холестерина (ЭХС) на 53,2—84,1%, лизофосфатидилхолина — в 6,3—7,9 раз, сфингомиелина — на 27,4—34,1%, фосфатидилсерина — на 30,3—32,7%, а также уменьшение уровня фосфатидилэтаноламина на 26,2—31,8% и фосфатидилинозита (ФИ) — на 66,1—76,5% ($p < 0,05$).

В спектре липидов тромбоцитов выявлено повышение содержания фракции холестерина (ХС) на 23,1—31,0%, эфиров холестерина на 44,3—63,6%, свободных жирных кислот — на 60,2—66,3%, лизофосфатидилхолина — в 4,5—6,5 раз, уменьшение доли фосфатидилинозита — на 32,5—42,9%, фосфатидилсерина — на 39,4—47,2%, суммарных фосфолипидов — на 26,3—28,8% ($p < 0,05$).

В лимфоцитах обнаружено увеличение фракции триацилглицеридов (ТГЛ) на 92,3—110,2%, свободных жирных кислот — на 21,2—36,8%, лизофосфатидилхолина — в 8,1—8,5 раз, фосфатидилинозита — на 97,2—103,4%, фосфатидилсерина — на 54,7—72,5%, снижение уровня фосфатидилэтаноламина на 60,8—75,4% ($p < 0,05$).

Важнейшей составляющей в модификации липидного компонента крови могут, как отмечалось выше, выступать процессы перекисного окисления липидов, интенсификация которых происходит на фоне низкого уровня активности антиоксидантной системы.

Несмотря на наличие в липидном компоненте изменений, характерных для всех типов изучаемых клеток (накопление свободных жирных кислот, лизофосфатидилхолина), в спектре липидов клеток с различной специализацией определяются специфические изменения. В липидах эритроцитах и тромбоцитов регистрировалось возрастание доли эфиров холестерина, уменьшение уровня суммарных фосфолипидов, фосфатидилинозита и фосфатидилхолина. В лимфоцитах отмечалось увеличение доли фосфатидилинозита, фосфатидилсерина, снижение уровня фосфатидилэтаноламина на фоне относительного накопления фосфатидилхолина.

Метаболические и окислительные изменения липидов тканей, приводящие к изменениям в качественном и количественном их составе, могут способствовать развитию клеточных дисфункций [2]. Так, в эритроцитах при эндогенной интоксикации выявлено нарушение деформабельности, неспецифической проницаемости (табл. 4).

Таблица 4

Показатели функционального состояния эритроцитов при эндогенной интоксикации ($M \pm m$)

Показатель	Норма	Послеоперационный период		
		1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Индекс деформабельности, усл.ед.	0,77 ± 0,04	0,56 ± 0,03*	0,46 ± 0,02*	0,62 ± 0,03*
Неспецифическая проницаемость, %	38,22 ± 1,91	48,91 ± 2,69*	55,01 ± 2,56*	46,15 ± 2,48*

Изменения липидов плазмы крови, тромбоцитов и других клеток [1, 6] могут лежать в основе каскада реакций, приводящих к усилению агрегационной активности тромбоцитов (табл. 5).

Показатели АДФ-индуцированной (20 мкмоль) агрегации тромбоцитов при эндогенной интоксикации ($M \pm m$)

Показатель	Норма	Послеоперационный период		
		1-е сутки	3-и сутки	5-е сутки
Степень агрегации, %	33,30 ± 1,83	55,30 ± 3,04*	51,16 ± 2,81*	38,90 ± 2,14
Скорость агрегации, tg a	1,21 ± 0,07	2,28 ± 0,13*	2,13 ± 0,12*	1,76 ± 0,19*
Время агрегации, с	123,60 ± 5,56	105,50 ± 4,97*	117,90 ± 5,31	120,10 ± 5,40

При эндогенной интоксикации образуется широкий спектр химических соединений, свободных радикалов, обладающих цитотоксической активностью, создаются реальные предпосылки для повреждения ДНК. Действительно в культивируемых лимфоцитах увеличивалась частота aberrантных метафаз, парных фрагментов хромосомного типа ($0,43 \pm 0,028$ на 100 клеток), беспорядочного расположения хромосом (мозаицизм) (до $0,82 \pm 0,032$ на 100 клеток). О важной роли свободнорадикальных процессов в цитогенетических нарушениях свидетельствуют и результаты экспериментов с применением антиоксидантов. Карнозин (5 ммоль) и маннитол (5 ммоль) в опытах *in vitro* существенно понижали выход хромосомных aberrаций в культивируемых лимфоцитах.

Таким образом, при эндогенной интоксикации накопление различных медиаторов воспаления, гормонов, продуктов деградации биомолекул, окисленных производных и свободных радикалов, обладающих цитотоксичностью, обуславливает изменение липидного обмена, формирование комплекса патологических модификаций, имеющего ряд специфических черт в клетках крови с различной специализацией. В свою очередь видоизменение в липидном компоненте обуславливает изменения функциональной активности форменных элементов крови, часто неадаптивного характера. Нарушения липидного обмена и функциональной активности клеток крови коррелируют с выраженностью эндогенной интоксикации. Очевидно, что анализ указанного комплекса патологических модификаций в клетках-мишенях позволяет судить о конкретных звеньях патогенеза, глубине и прогнозе заболевания, сопровождающегося эндогенной интоксикацией.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Азизова О.А., Ройтман Е.В., Дементьева И.И. и др. Влияние липопротеидов низкой плотности на свертывание крови и фибринолитическую активность // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. — 2000. — Т. 129. — № 6. — С. 637—639.
- [2] Азизова О.А., Пирязев А.П., Никитина Н.А. и др. Влияние окисленных ЛПНП на гемолитическую резистентность эритроцитов // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. — 2002. — Т. 134. — № 8. — С. 160—162.
- [3] Биологические мембраны. Методы /Под ред. Дж.Б. Финдлея, У.Г. Эванза. — М.: Мир, 1990. — 424 с.
- [4] Власов А.П., Трофимов В.А., Аширов Р.З. Роль нарушений липидного гомеостаза в патогенезе перитонита. — Саранск: Изд-во Мордов. ун-та, 2000. — 208 с.
- [5] Геннис Р. Биомембраны: молекулярная структура и функции. — М.: Мир, 1997. — 624 с.
- [6] Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумины сыворотки крови в клинической медицине. — М., 1994. — 164 с.

- [7] *Родоман Г.Д., Шалаева Т.И., Добрецов Г.Е., Коротяев А.П.* Прогноз течения гнойно-воспалительных хирургических заболеваний брюшной полости с помощью флюоресцентного теста на альбумин // *Вестник хирургии*. — 1999. — Т. 158. — № 3. — С. 42—45.
- [8] *Ишанходжаев Т. М., Борников В.Т., Зайнутдинов Б.Р., Саатов Т.С.* Влияние изменений липидного состава мембран на функциональную активность тромбоцитов // *Биохимия*. — 1990. — Т. 55. — Вып. 8. — С. 1507—1512.
- [9] *Савельев В. С., Яблоков Е. Г., Петухов В. А.* Липидный дистресс-синдром в хирургии // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины*. — 1999. — Т. 127. — № 6. — С. 604—611.
- [10] *Федорова З.Д., Абдулкадыров К.М., Бессмельцев С.С., Котовицкова М.А.* Изменение некоторых реологических свойств эритроцитов при ряде заболеваний системы, крови // *Гематология и трансфузиология*. — 1989. — № 2. — С. 12—17.

THE LIPID STRUCTURE AND FUNCTIONAL STATUS OF BLOOD CELLS UNDER ENDOGENOUS INTOXICATION

**P. Vlasov, D.A. Visaitov, V.A. Trofimov,
N.U. Leschankina, M.V. Pyanov**

Faculty surgery department's, the genetics department's,
faculty of hospital therapy, the chair of pedagogical psychology and pedagogics
Mordovian state university named N.P. Ogarev
Bolshevitskaya str., 68, Saransk, Russia, 430000

V.F. Mustaytsa

The pathological physiology chair
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 6, Moscow, Russia, 117198

The lipids structure of blood cells and plasma has specific modification under endogenous intoxication. The pathological complex of lipid modification is top-ranked reason of blood cells dysfunction under endogenous intoxication. It is necessary to correct one opportunely.

Key words: endogenous intoxication, blood cells, lipids.