

М.В. Кручинина^{1*}, В.М. Генералов³,
С.А. Курилович¹, А.А. Громов²

НИИ терапии Сибирского отделения РАМН, г. Новосибирск, ¹ лаборатория гастроэнтерологии,

² лаборатория клинических биохимических методов исследования

³ ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», лаборатория биофизического анализа, г. Новосибирск

ДИЭЛЕКТРОФОРЕЗ ЭРИТРОЦИТОВ В ДИАГНОСТИКЕ ДИФФУЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

Резюме

Изучены электрические и вязкоупругие параметры эритроцитов методом диэлектрофореза у пациентов с диффузной патологией печени различной стадии и генеза. Наименее пластичными, склонными к агрегации, деструкции, с низкой резистентностью, высокой электропроводностью утолщенных мембран оказались эритроциты при смешанной этиологии процесса, причем изменения усугублялись от стадии гепатита к циррозу ($p < 0,05$). При алкогольном поражении печени наибольшие различия выявлены в уровнях амплитуды деформации, поляризуемости, дипольного момента и индекса деструкции по сравнению с вирусной этиологией. Хроническая HCV-инфекция (вирус гепатита С) приводит к большим сдвигам в показателях эритроцитов по сравнению с HBV (вирус гепатита В) ($p < 0,001-0,05$). Параметры эритроцитов можно использовать как дополнительный критерий для дифференциальной диагностики, определения прогноза заболевания, внесения дополнительных акцентов в лечение.

Ключевые слова: диэлектрофорез, эритроциты, диффузная патология печени, этиология.

Abstract

Electric and viscoelastic parameters of erythrocytes in patients with diffuse liver diseases with different stages and genesis and healthy men were studied by dielectrophoresis. The lowest strain amplitude of erythrocytes, tendency to aggregation, destruction, low resistance, high electrical conductivity of the membranes had thickened red blood cells of patients with mixed etiology of the process, changes were compounded from stage of hepatitis to cirrhosis ($p < 0,05$). In alcoholic liver disease revealed the greatest differences in the levels of strain amplitude of erythrocytes, polarizability, dipole moment, index of destruction compared to the viral etiology. Chronic HCV-infection leads to large shifts in the parameters of erythrocytes in comparison with HBV ($p < 0,001-0,05$). Parameters of erythrocytes can be used as an additional criterion for the differential diagnosis, prognosis of the disease, making additional emphasis in the treatment.

Key words: dielectrophoresis, erythrocytes, diffuse liver disease, the etiology.

Хронические диффузные заболевания (патологии) печени (ДПП) являются широко распространенными состояниями с тенденцией к дальнейшему росту частоты в популяции [4, 14]. Основными этиологическими факторами повреждения печени остаются вирусы и алкоголь. Для алкоголя печень является основным органом-мишенью, поскольку в ней происходит метаболизм большей части этанола [14]. Однако не у всех лиц, злоупотребляющих спиртными напитками, развивается клинически значимое поражение печени: частота выявления у них цирроза на вскрытии не превышает 10–15%, а у 33 % таких пациентов изменения печени вообще отсутствуют. Инфицирование вирусами гепатитов В и С лиц с хронической алкогольной интоксикацией, по данным эпидемиологического исследования, в 100% случаев ассоциировано с наличием ДПП. Поэтому вопросы о рисках, стадии и прогнозе, а также поиск и разработка новых

дифференциально-диагностических методов и критериев ДПП являются весьма актуальными.

Ряд авторов рассматривает эритроцит как универсальную модель для изучения изменений цитоплазматических мембран и метаболизма клеток организма, в том числе гепатоцитов [8, 10]. Эффект хронического воздействия этанола на клетки красной крови описан во многих исследованиях [4, 14]. Литературные данные свидетельствуют о высокой чувствительности клеток к воздействию со стороны вирусов [3]. Системная перестройка структуры эритроцитов под влиянием вируса, пространственное перераспределение положительных и отрицательных зарядов в объеме клетки ведут к изменению величины поляризуемости — способности атомов, ионов, молекул клетки смещаться во внешнем электрическом поле относительно положения равнове-

сия. Изменение вязкоупругих параметров эритроцитов при ДПП различного генеза, с одной стороны, отражает состояние гепатоцитов, с другой — оказывает влияние на развитие патологического процесса в печени.

Цель настоящей работы — изучить особенности вязкоупругих и электрических характеристик эритроцитов при хронических гепатитах различного генеза для возможного использования в целях диагностики и лечения.

Материалы и методы

Обследовано 160 мужчин в возрасте от 35 до 66 лет с ДПП — 123 больных с хроническим гепатитом (степень фиброза F1-F2) с минимальной (у 65 пациентов) и умеренной (у 58 больных) биохимической активностью, 37 — с циррозом печени (фиброз F4) (у 33 больных степень компенсации цирроза по Чайлд–Пью соответствовала 8–10 баллам (класс В), у 4 человек — 12–14 баллам (класс С)). Из них алкогольное поражение печени (АПП) установлено у 63 человек, у 42 — смешанная этиология (воздействие алкоголя и вируса). Вирусный генез заболевания выявлен у 55 больных (HCV — у 24 человек, HBV — у 27, HCV+HBV — у 3, HDV+HBV — у 1). Вирусная этиология болезни устанавливалась на основании обнаружения серологических маркеров и/или ДНК и РНК вирусов, а алкогольная — при отрицательных результатах ИФА сывороточных маркеров вирусных гепатитов [15] и достоверно подтвержденном систематическом потреблении алкоголя. Стадия болезни установлена на основании клинического, биохимического и инструментального исследований, включая ультразвуграфию. Кроме того, у 29 больных для верификации диагноза была проведена биопсия печени.

В качестве группы сравнения, общей для пациентов с ДПП, рассматривались практически здоровые мужчины (33 человека) в возрасте от 35 до 60 лет, ведущие здоровый образ жизни и употребляющие алкоголь не чаще 1–2 раз в месяц, у которых при комплексном исследовании не выявлено признаков патологии печени.

Исследование выполнено при одобрении Комитета биомедицинской этики НИИ терапии СО РАМН. Все обследуемые заполняли стандартные анкеты: 1) информированное согласие пациента на участие в обследовании; 2) стандартную анкету о потреблении алкоголя. У больных с верифицированным диагнозом, а также у мужчин группы сравнения исследовали электрические, вязкоупругие параметры эритроцитов методом диэлектрофореза (ДЭФ) [11] в неоднородном переменном электрическом поле (НПЭП) с помощью автоматизированной специализированной установки [6, 7].

Оценивали электропроводность мембран, индексы агрегации и деструкции эритроцитов, емкость мембран клеток, скорость движения эритроцитов к электродам, положение равновесной частоты, амплитуду деформации эритроцитов, поляризуемость клеток, обобщенные показатели вязкости и жесткости, величину индуцированного дипольного момента. Для компьютерной обработки данных использовался пакет оригинальных программ CELLFIND. Ошибка воспроизводимости метода — 7–12%. Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы SPSS, ver. 10. Достоверность различия показателей оценивали по критериям Стьюдента (p), Пирсона (r) (при нормальном распределении), в случаях отклонения распределения от нормального использовались непараметрические критерии (U-критерий Манна–Уитни, критерий Колмогорова–Смирнова).

Результаты и обсуждение

Наблюдения за характером поведения эритроцитов в НПЭП показали, что эритроциты здоровых лиц на частотах $5 \cdot 10^5$ Гц и 10^6 Гц обнаружили ярко выраженную способность к деформации (рис. 1а). Они вытягивались и приобретали высокую поступательную скорость в сторону ближайшего электрода. На

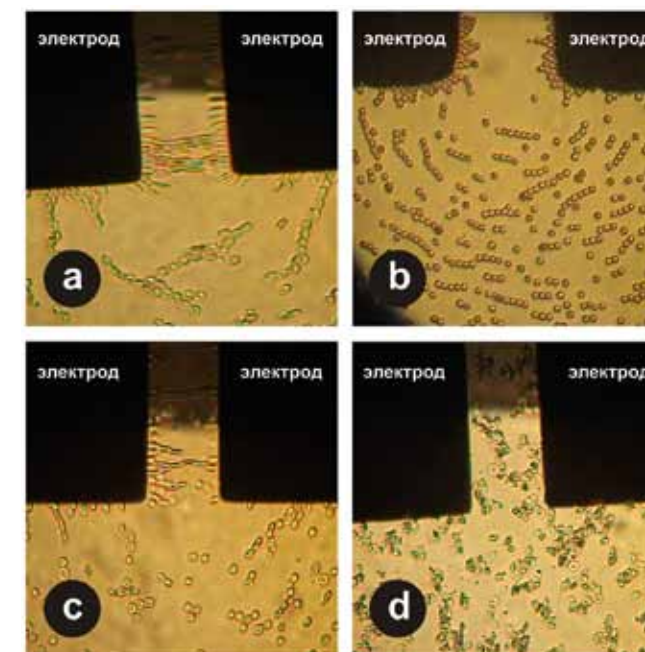


Рисунок 1. Разделение и деформация эритроцитов под действием НПЭП на частоте 1 МГц:

- у лиц группы сравнения;
- у больных с диффузной патологией печени (цирроз смешанного генеза);
- повышенный гемолиз эритроцитов у больных с алкогольным гепатитом;
- повышенное образование агрегатов у пациентов с вирусно-алкогольным гепатитом

* Контакты. E-mail: kruchmargo@yandex.ru. Телефон: (383) 267-97-55

частотах 5•10⁴ Гц, 10⁵ Гц деформации не наблюдалось, клетки отталкивались от электродов (отрицательный диэлектрофорез), единичные клетки под действием поля разрушались.

У больных с ДПП взаимодействие эритроцитов с НПЭП было другим: амплитуда деформации (м) и скорость поступательного движения клеток (мкм/с) относительно электродов на высоких частотах 5•10⁵ Гц и 10⁶ Гц были значительно ниже (0,74•10⁻⁶ ± 1,47•10⁻⁷ против 2,61•10⁻⁶ ± 1,08•10⁻⁷ в контроле, ρ < 0,001 для амплитуды и 7,14 ± 1,16 против 10,4 ± 2,17 в контроле, ρ < 0,02 — для скорости) (*рис. 1b*). Избыточный гемолиз клеток наблюдался как на высоких (5•10⁵ Гц) (*рис. 1с*), так и на низких частотах (5•10⁴ Гц, 10⁵ Гц). Отмечалась также повышенная способность эритроцитов к образованию агрегатов крупных размеров после перевода эритроцитов в раствор 0,3М сахарозы (индекс агрегации 0,76 ± 0,024 против 0,54 ± 0,017 в контроле, ρ < 0,004) (*рис. 1d*).

По мере утяжеления патологического процесса в печени (перехода от стадии гепатита к стадии цирроза) показатели электропроводности (См/м) (от 6,21•10⁻⁵ + 1,18•10⁻⁵ у больных с гепатитами, ρ < 0,02), обобщенные показатели жесткости (Н/м) (7,2•10⁻⁶ + 1,67•10⁻⁶ и 11,74•10⁻⁶ + 1,55•10⁻⁶ соответственно, ρ < 0,004), вязкости (Па.с) (от 0,68 + 0,19 к 0,89 + 0,1 соответственно, ρ < 0,02), средний диаметр эритроцитов (м) (от 7,28•10⁻⁶ + 8,11•10⁻⁸ при гепатитах к 7,96•10⁻⁶ + 1,11•10⁻⁷ при циррозах, ρ < 0,02) нарастали, а амплитуда их деформации (м) (от 0,97•10⁻⁶ + 1,14•10⁻⁷ у пациентов с гепатитами к 0,64•10⁻⁶ + 1,63•10⁻⁷ у больных с циррозами, ρ < 0,04), поляризуемость мембран на частоте 10⁶ Гц (м³) (от

6,77•10⁻¹⁵ + 1,81•10⁻¹⁶ к 4,82•10⁻¹⁵ + 2,17•10⁻¹⁶ соответственно, ρ < 0,05) уменьшались.

Таким образом было установлено, что наличие ДПП приводит к деполяризации эритроцитов, при этом амплитудно-частотные характеристики клетки в НПЭП являются хорошим индикатором физико-химических свойств ее мембраны и цитоплазмы, а также отражают состояние ее биологической активности.

При анализе поведения эритроцитов в НПЭП при ДПП различного генеза обнаружили достоверные различия в отдельных группах по ряду показателей (*таблица*). Наиболее жесткими, вязкими и плохо деформирующимися оказались эритроциты больных с патологией печени алкогольного и смешанного генеза, достоверно отличаясь от величин при HBV и HCV (ρ < 0,004–0,05). Получены достоверные высокие корреляции обобщенной жесткости эритроцитов, амплитуды деформации с наличием смешанной этиологии процесса (r = 0,64, ρ < 0,02; r = –0,73, ρ < 0,033, соответственно). Известно, что способность эритроцита к деформации обусловлена его вязкоупругими свойствами [1, 13, 19, 20]. Снижение деформируемости эритроцитов, по данным нашего исследования, связано с повышением обобщенных показателей вязкости и жесткости клеток. Одной из возможных причин этого является увеличение уровня холестерина в мембране эритроцитов, повышения показателя соотношения холестерин/фосфолипиды. Известно, что между эритроцитами и адсорбированными на их поверхности липопroteидами происходит постоянный обмен холестерина [12]. Наиболее интенсивно протекает обмен холестерина между клетками красной крови и ЛПВП,

Показатели ВУХ эритроцитов	1-я группа (больные с HBV, n = 27)	2-я группа (больные с HCV, n = 24)	3-я группа (смешанный генез, n = 42)	4-я группа (больные с АПП, n = 63)
Амплитуда деформации (м)	6,9•10 ⁻⁶ ± 1,2•10 ⁻⁷	6,7•10 ⁻⁶ ± 1,3•10 ⁻⁷	5,1•10 ⁻⁶ ± 1,5•10 ⁻⁷ ***^	5,7•10 ⁻⁶ ± 1,4•10 ⁻⁷ *****#
Обобщенный показатель жесткости (Н/м)	6,1•10 ⁻⁶ ± 8,3•10 ⁻⁷	7,2•10 ⁻⁶ ± 6,7•10 ⁻⁷	9,2•10 ⁻⁶ ± 4,5•10 ⁻⁷ **^	8,1•10 ⁻⁶ ± 6,9•10 ⁻⁷ *
Обобщенный показатель вязкости (Па . с)	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,12	0,8 ± 0,07*	0,7 ± 0,06*^
Индекс агрегации Ег (усл. ед.)	0,62 ± 0,1	0,74 ± 0,04	0,86 ± 0,05* ^	0,81 ± 0,06
Индекс деструкции Ег (%)	5,2 ± 0,7	6,7 ± 0,4*	8,3 ± 0,4***^	7 ± 0,5*#
Поляризуемость (м ³) 10 ⁶ Гц	6,9•10 ⁻¹⁶ ± 4,2•10 ⁻¹⁷	6,4•10 ⁻¹⁶ ± 3,7•10 ⁻¹⁷	4,2•10 ⁻¹⁶ ± 3,1•10 ⁻¹⁷ *****^	5,3•10 ⁻¹⁵ ± 4,1•10 ⁻¹⁷ ***#
Электропроводность (См/м)	5,5•10 ⁻⁵ ± 4,6•10 ⁻⁶	6,5•10 ⁻⁵ ± 7,7•10 ⁻⁶ *	9,3•10 ⁻⁵ ± 5,9•10 ⁻⁶ *****^	7,1•10 ⁻⁵ ± 6,1•10 ⁻⁶ *#
Емкость клеточной мембраны (Ф)	6,4•10 ⁻¹⁴ ± 2,3•10 ⁻¹⁵	5,2•10 ⁻¹⁴ ± 3,9•10 ⁻¹⁵ **	3,8•10 ⁻¹⁴ ± 4,6•10 ⁻¹⁵ ***^	4,7•10 ⁻¹⁴ ± 7,5•10 ⁻¹⁵ *
Скорость движения Ег к электродам (мкм/с)	7,72 ± 2,38	6,94 ± 2,08	5,38 ± 1,74	6,57 ± 2,19
Равновесная частота (Гц)	3,6•10 ⁵ ± 4,4•10 ⁶	3,2•10 ⁵ ± 5,1•10 ⁶	7,1•10 ⁵ ± 7,0•10 ⁶ *****^	8,6•10 ⁵ ± 6,0•10 ⁶ *****^
Дипольный момент (Кл.м)	5,5•10 ⁻²² ± 0,7•10 ⁻²²	4,2•10 ⁻²² ± 0,8•10 ⁻²²	2,9•10 ⁻²² ± 2,7•10 ⁻²⁵ ***^	3,4•10 ⁻²² ± 3,1•10 ⁻²⁵ **

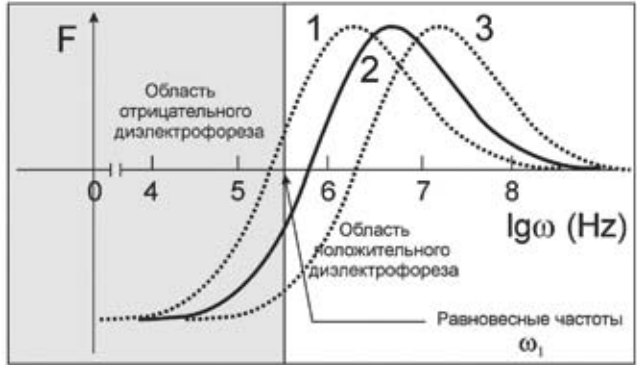
Примечание. М — среднее, m — средняя ошибка.
* — достоверность (p) отличия от 1-й группы (* — ρ < 0,05, ** — ρ < 0,02, *** — ρ < 0,0004);
^ — достоверность (p) отличия от 2-й группы (^ — ρ < 0,05, ^^ — ρ < 0,02, *** — ρ < 0,0004);
— достоверность (p) отличия от 3-й группы (# — ρ < 0,04).
Величина дипольного момента рассчитывалась при напряженности электрического поля 8,85•10⁻¹²В/м. ВУХ — вязкоупругие характеристики.

Вязкоупругие и электрические характеристики эритроцитов у больных с ДПП различного генеза (M ± m)

при этом существенную роль играет фермент лецитин-холестерин-ацилтрансфераза (ЛХАТ) сыворотки крови, синтез которого происходит в печени и в значительной степени определяется ее состоянием. Отсюда следует, что при патологии печени наблюдается снижение уровня ЛХАТ с последующим повышением содержания свободного холестерина в сыворотке крови и затем — в эритроцитах. В результате встраивания холестерина в мембрану эритроцитов увеличиваются их размеры, изменяется форма с резким снижением фильтрационной способности [17, 18]. В клинике все это может привести к затруднению движения эритроцитов по микроциркуляторному руслу и нарушению процессов переноса кислорода, т.е. быть причиной возникновения ишемических состояний. Снижение амплитуды деформации клеток под действием НПЭП, нарастающее от стадии гепатита к стадии цирроза, является прообразом поведения эритроцитов в микроциркуляторном русле, на уровне капилляров, просвет которых в несколько раз меньше диаметра клеток. Ригидные эритроциты, склонные к образованию агрегатов, в таких обстоятельствах легко гемолизируют, а эритроцитарные агрегаты повреждают эндотелий сосудов [9].

Нарастание уровня холестерина, повышение соотношения холестерин/фосфолипиды в мембранах эритроцитов, снижение активности ЛХАТ установлено при хроническом злоупотреблении этанолом [13, 16], что объясняет низкую деформируемость эритроцитов при АПП и особенно при наличии ДПП смешанного генеза, когда сочетаются два этиологических фактора — алкоголь и вирус гепатита. У пациентов с хроническим гепатитом С эритроциты имели тенденцию к более низкой деформируемости по сравнению с хронической В-инфекцией.

Индекс агрегации эритроцитов в 0,3 М растворе сахарозы, склонность к гемолизу были наиболее высокими, а поляризуемость — минимальной при смешанном генезе заболевания (ρ < 0,004–0,05), та же тенденция отмечена для АПП. Наличие HCV-инфекции делало эритроциты также более склонными к деструкции по сравнению с HBV-инфекцией. Вероятно, это является следствием более выраженных изменений вязкоупругих свойств эритроцитов. Повышенные индексы деструкции и агрегации коррелировали с низкими показателями поляризуемости клеток (r = –0,52, ρ < 0,048; r = –0,63, ρ < 0,04, соответственно). Снижение поляризуемости эритроцитов, отражающей биологическую активность клеток, вероятно, является отражением неэффективного, ускоренного эритропоэза при ДПП, нарастающего по мере прогрессирования заболевания. Воздействие на костный мозг с последующим нарушением синтеза эритроцитов установлено при хронических ДПП как вирусной, так и алкогольной природы [4, 8, 9, 14, 16]. Следствием этого является снижение устойчивости клеток к воздействию различных стрессовых факторов и последующий избыточный лизис эритроцитов



На рисунке цифрами показаны положения равновесных частот у обследуемых:
1 – больных с хроническими вирусными гепатитами;
2 – обследуемых группы сравнения;
3 – больных с алкогольными поражениями печени.

Рисунок 2. Зависимость степени поляризации эритроцитов от частоты неоднородного переменного электрического поля у пациентов с ДПП и в группе сравнения

с повышением уровня общего билирубина, преимущественно за счет непрямой фракции. Гипербилирубинемия (за счет повышения непрямой фракции) оказалась прямо связанной с уровнем лизиса эритроцитов — индексом деструкции (r = 0,64, ρ < 0,048), индексом агрегации клеток (r = 0,51, ρ < 0,033).

У пациентов с различной этиологией процесса наблюдалось изменение положения равновесной частоты в НПЭП (*рис. 2*): у больных с вирусной этиологией достоверно чаще (ρ < 0,05) наблюдалось смещение равновесной частоты в область более низких частот (10⁵ Гц), в то время как у пациентов с алкогольным и смешанным генезом заболевания, напротив, отмечалось смещение таковой в область более высоких частот (более 5•10⁵ Гц) (*таблица*). Обнаруженный факт изменения положения равновесной частоты при различном генезе заболевания, возможно, обусловлен разностью механизмов воздействия вируса и этанола на клетку. Вероятно, адсорбция вируса на мембране эритроцита увеличивает ее электрическую емкость, которая и приводит к смещению равновесной частоты в низкочастотную область, либо к полному ее исчезновению [5]. Смещение равновесной частоты в высокочастотную область у больных с АПП, очевидно, свидетельствует о высокой электропроводности мембран эритроцитов, возникающей на фоне длительного воздействия алкоголя.

У пациентов со смешанной этиологией процесса величина электрической емкости мембран клеток оказалась минимальной (ρ < 0,004), несколько выше этот показатель при алкогольной этиологии процесса (ρ < 0,05). Больные с HBV имели достоверно более высокую емкость мембран по сравнению с HCV (ρ < 0,02). Сдвиги показателя электрической емкости мембран эритроцитов могут указывать на изменение толщины мембраны. Снижение емкости

клеточной мембраны у пациентов свидетельствует об утолщении мембран клеток красной крови. Свой вклад в изменение этого показателя у пациентов с ДПП вносят различные факторы, такие как усиление обмена с сывороточными липидами, подтверждаемое обратными связями емкости мембран эритроцитов с уровнем общего холестерина ($r = -0,47$, $p < 0,05$), триглицеридов ($r = -0,53$, $p < 0,02$); адсорбция фибриногена ($r = -0,46$, $p < 0,05$) при повышении его концентрации в крови. Кроме того, изменение электрической емкости мембран эритроцитов обнаружило прямую зависимость со степенью диспротеинемии при ДПП, которая, вероятно, носит более выраженный характер при смешанном и HCV-генезе заболевания (с учетом выраженности при последнем иммуновоспалительного синдрома). Получены прямые корреляции этого показателя с уровнем альбуминов ($r = 0,512$, $p < 0,03$) и обратные с уровнем γ -глобулинов ($r = -0,43$, $p < 0,02$).

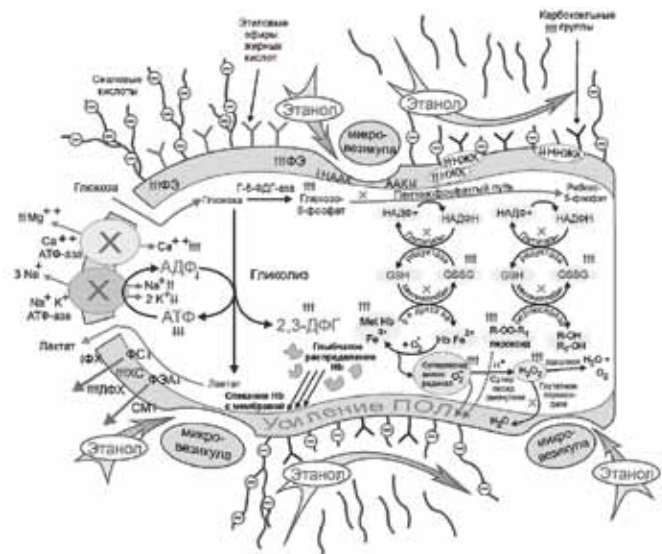


Рисунок 3. Схема хронического действия этанола на эритроциты при АПП

Сниженные показатели дипольного момента у всех пациентов с ДПП достигали минимальных значений при смешанном и алкогольном генезе процесса (таблица). Эти параметры свидетельствуют о снижении индуцированного электрического заряда эритроцитов при ДПП. Подобные изменения могут быть объяснены рядом причин. Во-первых, известно, что при АПП средний корпускулярный объем эритроцитов возрастает на 17–18%, что приводит к снижению плотности поверхностного заряда за счет перераспределения гликопротеидов и гликолипидов мембран по поверхности клетки (рис. 3). Следствием нарушения синтетической функции печени является повышение концентрации общего холестерина в сыворотке крови. Известный феномен холестеринснижающей функции эритроцитов приводит к увеличению уровня легкоотделяемой фракции холестерина в мембране эритроцита как результату взаимодей-

ствия с липопротеидами плазмы, изменению соотношения холестерин/фосфолипиды. Увеличение содержания холестерина вызывает возрастание вязкости, жесткости мембраны эритроцита, нарушает латеральную диффузию рецепторов, ионный транспорт, проницаемость для растворенных веществ.

В процессе развития алкогольного поражения печени увеличение соотношения НАДН2:НАД+ приводит к нарастанию продукции печенью лактата, стимулирующего коллагеногенез, а также стимуляции печеночного кетогенеза с кетонемией и кетонурией. В свою очередь, гиперлактатемия и кетоны оказывают существенное влияние на состояние термотропного фазового перехода в мембранах эритроцитов, снижая эффективность работы ферментных систем, гемоглобина. Непосредственное действие этанола на мембраносвязанные белки, в том числе ферменты (Na⁺, K⁺-АТФазу, Ca²⁺-АТФазу) приводит к снижению активности последних, уменьшению уровня, возрастанию соотношения аденозинтрифосфата (АДФ)/аденозиндифосфата (АТФ). Истощение ресурсов АТФ приводит к нарушению поддержания липидной асимметрии в мембране эритроцита. В связи с этим в наружном монослое мембраны эритроцита появляются (или увеличиваются по содержанию) кислые фосфолипиды (фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин). Данное обстоятельство приводит к возрастанию электростатических сил взаимодействия факторов свертывания крови с мембраной эритроцитов, что увеличивает вероятность тромбоза.

Во-вторых, в мембранах эритроцитов происходит уменьшение абсолютного содержания сиаловых и нейраминной кислот (плотность поверхностного заряда на 60% определяется именно их содержанием) [8, 9, 13]. В условиях сочетания двух повреждающих факторов — этанола и вирусной инфекции — уровень сиаловых кислот становится особенно низким, т.к. вирусы обладают выраженной нейраминидазной активностью [17]. Возможно, этим объясняются более выраженные сдвиги электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов у пациентов с патологией печени смешанного генеза. В-третьих, изменение соотношения белковых фракций при ДПП усиливается по мере утяжеления процесса в печени: чем больше сдвиг физиологического состояния, тем меньше электрический заряд [9]. Повышение уровня глобулинов сыворотки крови, фибриногена, фибрина сопровождается их адсорбцией на поверхности эритроцитов, приводя к снижению электрического заряда клеток и усилению их склонности к агрегации.

Показатели электропроводности эритроцитов продемонстрировали максимальные значения у больных со смешанной и алкогольной этиологией процесса ($p < 0,001$ – $0,05$), ту же тенденцию проявляли пациенты с HCV. Измененная электропроводность отражает степень структурных изменений в мембранах, которые максимальны при сочетании двух

патологических факторов. Увеличение содержания холестерина в мембранах вызывает возрастание обобщенной вязкости, жесткости эритроцита, нарушает латеральную диффузию рецепторов, проницаемость для растворенных веществ, ионный транспорт, приводя к повышению электропроводности мембраны [1].

Выводы

1. У пациентов с ДПП различного генеза эритроциты обнаруживали достоверно более низкие показатели амплитуды деформации, поляризуемости, емкости мембран, дипольного момента и более высокие показатели обобщенных вязкости, жесткости, электропроводности, индексов деструкции, агрегации по сравнению со здоровыми обследуемыми. Степень выраженности отклонений нарастала от стадии гепатита к стадии цирроза.
2. Наименее пластичными, склонными к агрегации, деструкции, с низкой резистентностью, высокой проводимостью утолщенных мембран оказались эритроциты пациентов со смешанной этиологией процесса, что свидетельствует об усилении токсического воздействия на клетки при сочетании двух патологических факторов.
3. При алкогольном поражении печени наибольшие различия выявлены в уровнях амплитуды деформации эритроцитов под действием НПЭП, поляризуемости, дипольного момента и индекса деструкции по сравнению с вирусной этиологией процесса, что, вероятно, связано с хроническим непосредственным действием этанола на эритроциты.
4. Хроническая HCV-инфекция приводит к достоверно большему повышению показателя электропроводности, индекса агрегации и меньшим — емкости мембран эритроцитов по сравнению с HBV-инфекцией; это, возможно, определяется внепеченочными проявлениями действия вируса.
5. Выявлена корреляция параметров эритроцитов с биохимическими показателями, отражающими воспалительный процесс, синдромы цитолиза, холестаза, белоксинтетическую функцию печени при ДПП различного генеза.
6. Исследование электрических и вязкоупругих характеристик эритроцитов методом диэлектрофореза можно использовать как дополнительный критерий для дифференциальной диагностики, определения прогноза заболевания, эффективности терапии, внесение дополнительных акцентов в лечение.

Список литературы

1. Антонов В.Ф. Липидные поры: стабильность и проницаемость мембран // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 10. С. 10–17.
2. Бакиров Т.С., Генералов В.М., Топорков В.С. Измерение вязкоупругих характеристик клетки с помощью неоднородного переменного электрического поля // Биотехнология. 1998. № 5. С. 88–96.
3. Букринская А.Г. Вирусология. М.: Медицина, 1986. 336 с.
4. Гастроэнтерология. Национальное руководство. Под ред. В.Т. Ивашкина, Т.Л. Лапиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 700 с.
5. Генералов В.М., Бакиров Т.С., Дурманов А.Г. и др. Теоретическое и экспериментальное исследование влияния пор мембраны на амплитудно-частотную зависимость поляризуемости клетки // Биофизика. 2008. Т. 53. Вып. 5. С. 810–816.
6. Генералов В.М., Бакиров Т.С., Пак А.В. и др. Автоматизированная установка измерения вязкоупругих характеристик эритроцитов // Научные технологии. 2008. Т. 9. № 12. С. 28–33.
7. Генералов В.М., Бакиров Т.С., Пак А.В. и др. Способ дифференциальной диагностики заболеваний печени. Патент РФ № 2296327. Заявка № 2004126112 от 30.08.2004; опубл. 27.03.2007, Бюл. № 9.
8. Добронравов А.В., Новицкая А.В. Метаболические аспекты патологии эритроцитарных мембран (обзор литературы) // Вopr. охраны материнства и детства. 1976. Т. 21. № 4. С. 20–24.
9. Исследование системы крови в клинической практике. Под ред. Г.И. Козинца, В.А. Макарова. М.: Триада-Х, 1997. 480 с.
10. Конев С.В. Структурная лабильность биологических мембран и регуляторные процессы. Минск: Наука и техника, 1987. 240 с.
11. Кручинина М.В., Курилович С.А., Паруликова М.В. и др. Вязкоупругие и электрические характеристики эритроцитов при различной степени фиброза печени // Вестник НГУ. 2005. Т. 3. Вып. 4. С. 43–52.
12. Леонова Т.Я. К вопросу об эритроцитарном механизме регуляции холестеринемии при экспериментальной гиперхолестеринемии и ишемической болезни сердца. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 1982. 22 с.
13. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степачева Е.А. Физиология и патофизиология эритроцита. Томск: Из-во ТГУ, 2004. 202 с.
14. Подымова С.Д. Болезни печени. М.: Медицина, 1993. 544 с.
15. Руководство по лабораторным методам диагностики. Под ред. А.А. Кишкун. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 800 с.
16. Сторожок С.А., Санников А.Г., Захаров Ю.М. Молекулярная структура мембран эритроцитов и их механические свойства. Тюмень: Изд-во ТюмГУ, 1997. 140 с.
17. Черницкий Е.А., Воробей А.В. Структура и функции эритроцитарных мембран. Минск: Наука и техника, 1981. 215 с.
18. Banerjee R., Nageshwari K., Puniyani R.R. The diagnostic relevance of red cell rigidity // Clin. Hemorheol. Microcirc. 1988. Vol. 19. № 1. P. 21–24.
19. Engelhardt H., Gaub H., Sackmann E. Viscoelastic properties of erythrocyte membranes in high-frequency electric fields // Nature (London). 1984. Vol. 307. № 5949. P. 378–380.
20. Engelhardt H., Sackmann E. On the measurement of shear elastic moduli and viscosities of erythrocyte plasma membranes by transient deformation in high frequency electric fields // Biophys. J. 1988. Vol. 54. № 3. P. 495–508.