

УДК 616.5-002-08-06:576.324: 612.111

<http://orcid.org/0000-0001-9796-4241>

<http://orcid.org/0000-0001-8859-2116>

<http://orcid.org/0000-0002-5052-7033>

<http://orcid.org/0000-0003-3206-6250>

<http://orcid.org/0000-0003-2912-8959>

<http://orcid.org/0000-0001-8174-7170>

СТАН МЕМБРАН ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ЛІКАРСЬКУ ХВОРОБУ

Е.М. Солошенко, *д. мед.н., проф.*¹, Н.Є. Узленкова, *к. біол.н.*²,
Г.К. Кондакова, *к. біол.н.*¹, А.Є. Дунаєва, *к. мед.н.*¹, Т.П. Ярмак¹, З.М. Шевченко¹

¹ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМНУ»

²ДУ «Інститут медичної радіології НАМНУ ім. С.П. Григор'єва»
elvirasolo@ukr.net

Представлені дані досліджень стану мембран еритроцитів у 92 хворих на лікарську хворобу (ЛХ) з гострими та латентними її формами. Контрольну групу склали 30 практично здорових донорів. Встановлено, що у хворих на ЛХ спостерігається збільшення частки макроформ еритроцитів, зміна електричних характеристик еритроцитарних мембран та високий ступінь кислотного гемолізу. Порушення стану еритроцитарних мембран найчастіше розвиваються у хворих на ЛХ, асоційовану з алергодерматозами. Вивчення структурно-функціонального стану еритроцитарних мембран дозволить отримати додаткову інформацію про тяжкість патологічного процесу, а також оцінити ефективність терапії і будувати індивідуальний прогноз перебігу патологічного процесу.

Ключові слова: лікарська хвороба, еритроцити, об'єм, діаметр, електричний пробій, кислотний гемоліз.

Erythrocyte membrane condition in patients with drug disease. Soloshenko E.M., Uzlenkova N. Ye., Kondakova A.K., Dunayeva A.Ye., Yarmak T.P., Shevchenko Z.M. – The research data of erythrocyte membrane condition in 92 patients both with acute and latent drug disease (DD) are represented. The control group consisted of 30 practically healthy donors. The erythrocyte link is a sensitive system directly involved in mechanisms for the development of sensitization to drugs, as evidenced by a change in their erythrocytometric indices and membranes structures. The patients with DD revealed to have the increase in erythrocyte macroforms, malfunction of electrical characteristics of erythrocyte membranes as well as high resistance to acid hemolysis. Erythrocyte membrane condition malfunctions have been mostly observed in patients with DD associated with allergic dermatoses. The research of structural and functional erythrocyte membrane condition will allow to get additional information about pathological process gravity as well as to estimate efficacy of therapy and to create individual prognosis of pathological process course.

Key words: drug disease, erythrocytes, volume, diameter, electric hasp, acid emolysis.

ВСТУП

В останні роки значно почастишала реєстрація побічної дії лікарських засобів (ПДЛЗ). Згідно даних ВООЗ вона зустрічається у 10-20% населення, при цьому у 3% випадків ПДЛЗ є приводом до амбулаторного звернення до лікарів, у 5% – до госпіталізації, у 3% – до інтенсивної терапії, у 12% – до суттєво тривалого перебування у стаціонарі, у 1 – причина летальності. За цими показниками ПДЛЗ займає 5 місце після серцево-судинних, онкологічних, пульмонологічних захворювань та травм. В Україні за даними МОЗ України і фармаконагляду побічні реакції алергічного генезу складають 57,24%, серед яких 37,22% – ураження шкіри. Для них в останні роки характерні тяжкі клінічні прояви за типом синдрому Лаєла, Стівенса-Джонсона, некротичного васкуліту, еритродермії, міхурових дерматозів, які нагадують клінічну картину істинних дерматозів, що ускладнює їх диференційну діагностику. В цих випадках допомагають результати лабораторних алергологічних досліджень, за допомогою яких виявляється лікарський засіб (ЛЗ), що став причиною розвитку алергічного стану і що дозволяє поставити етіологічний діагноз лікарської хвороби (ЛХ). Традиційно оцінка сенсibiliзації до ЛЗ проводиться з використанням імункомпетентних клітин. В той же час відомо, що в імунних реакціях приймають участь не тільки лімфоцити, але й еритроцити. Експериментальними дослідженнями підтверджена здатність еритроцитів адсорбувати на поверхні чужорідні антигени, що дозволяє розцінювати їх як клітини-інформатори індуктивної фази алергічної реакції, а також як посередників в процесах нейтралізації антигенного матеріалу на наступних стадіях імунної відповіді [2, 6]. Фактично за даними цих досліджень еритроцити виконують роль буферної системи, яка регулює інтенсивність імунної відповіді [1, 2]. Між тим, дотепер залишається не дослідженою роль еритроцитів в імунній відповіді при розвитку сенсibiliзації до ЛЗ, як і роль еритроцитарних мембран, які володіють високою чутливістю до змін гомеостазу внутрішнього середовища організму, що викликаються екзогенними і ендогенними чинниками [2, 8, 9].

Мета роботи – провести дослідження процесів електричного пробою мембран еритроцитів, їх резистентності до кислотного гемолізу, а також визначити середній об'єм та діаметр еритроцитів у хворих із сенсibiliзацією до лікарських засобів (ЛЗ).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводилося серед 92 хворих на лікарську хворобу (ЛХ) у віці 20–65 років, з яких у 42 були гострі клінічні прояви (гостра лікарська хвороба – ГЛХ) і у 50 – латентна форма лікарської хвороби (лікарська хвороба в анамнезі – ЛХА). Серед основних захворювань, на фоні яких розвивалася ЛХ, реєстрували поширені хронічні дерматози (псоріаз, мікоз, алергодерматози) та соматичну патологію (серцево-судинні захворювання та захворювання шлунково-кишкового тракту – ШКТ). Контрольну групу склали 30 практично здорових донорів.

Визначали стабільність мембран еритроцитів шляхом вимірювання величини струму (I, мкА) і напруги (U, мВ) пробою, що виникає в мембрані під

впливом зовнішнього електричного поля, а також параметри відносної провідності (ВП) і питомого опору цитоплазми клітин (ρ , Ом/см) до і після пробою. Вивчали середній діаметр еритроцитів (EP) (D, мкм) і середній об'єм (V , мкм³), гістограми їхнього розподілу за діаметром (Kd) та об'ємом (Kv). Дослідження проводили на автоматичній установці кондуктометричного типу – електроцитоаналізаторі ЕЦА-02 [4, 5].

Резистентність EP до кислотного гемолізу визначали на автоматичній термостатованій установці, яка представлена фотоелектричним колориметром та IBM, де проводилась комп'ютерна обробка отриманих даних з виводом графічного зображення процесу гемолізу. Оцінювали час гемолізу T_1 і T_2 (сек) при двох різних концентраціях хлоридної кислоти (0,003 N і 0,005 N HCL відповідно). Виміри проводили на фотометрі при довжині хвилі 720 нм. [3].

Статистичну обробку фізико-хімічних даних EP проводили на комп'ютері Intel Pentium MMX 200 за допомогою програмного пакета STATISTICA/w (США), Release 5.0 (StatSoft), оцінюючи вірогідність відмінностей за t-критерієм Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз досліджень свідчив, що при розвитку ЛХ зростає неоднорідність популяції EP, циркулюючих в кровоносному руслі, на що вказують результати вимірів об'єму і діаметру EP, а також аналіз гістограм їх розподілу (табл. 1).

Таблиця 1

Середній діаметр, об'єм еритроцитів та гістограми їхнього розподілу за діаметром і об'ємом у хворих на лікарську хворобу, що асоційована з поширеними дерматозами і соматичною патологією

Групи обстежених	V еритр. мкм ³	D еритр. Мкм	Kv	Kd
Практично здорові донори n = 30	62,32 ± 2,8	5,93 ± 0,3	26,9 ± 2,7	2,42 ± 0,2
Псоріаз n = 17	69,3 ± 4,6	8,31 ± 2,1*	32,6 ± 3,8	3,6 ± 0,4*
Алергодерматози n = 38	71,3 ± 3,4*	8,35 ± 3,0*	34,3 ± 5,7	3,7 ± 0,3*
Мікози n = 10	63,0 ± 1,9	8,51 ± 1,1*	26,7 ± 5,7	3,2 ± 0,2*
Захворювання ШКТ n = 14	74,6 ± 4,9*	7,7 ± 1,9	39,6 ± 5,3*	3,6 ± 0,5*
Серцево-судинні захворювання n = 13	70,5 ± 4,0*	7,4 ± 3,1	39,6 ± 3,7*	4,1 ± 0,1*

Примітка: * $p < 0,05$ порівняно з контролем

У хворих на ЛХ спостерігається достовірно збільшення об'єму і діаметру ЕР, у порівнянні із значеннями цих параметрів у практично здорових осіб (див. табл. 1). Достовірно збільшення діаметру ЕР реєстрували у хворих на ЛХ, яка мала перебіг на фоні алергодерматозів, псоріазу та мікозів, а збільшення об'єму – лише на фоні алергодерматозів, а також серцево-судинних захворювань і патології шлунково-кишкового тракту. Збільшення ширини гістограм розподілу ЕР за діаметром (Kd) виявляли при перебігу ЛХ, що асоційована з алергодерматозами, псоріазом, мікозами, серцево-судинними і шлунково-кишковими захворюваннями, в той час як збільшення ширини гістограм розподілу ЕР за об'ємом (Kv) – лише при перебігу ЛХ, асоційованій із серцево-судинною і шлунково-кишковою патологією (див. табл.1). Можна припустити, що збільшення ширини гістограм розподілу ЕР за об'ємом (Kv) і діаметром (Kd) при ЛХ свідчить про наростання анізоцитозу, тобто посилення неоднорідності популяції ЕР за морфологічними характеристиками з кількісною перевагою їх макроформ [6]. Не виключено, що виявлені зміни розміру ЕР пов'язані з порушенням мікрров'язкості і інтегральної цілісності їх мембран, оскільки відомо, що порушення фізико-хімічних властивостей мембран, яке викликається зміною їх пластичності і стійкості, приводять до зниження еластичності і тонусу ЕР, що, у свою чергу, сприяє їх ущільненню і збільшенню діаметру [1, 7, 8].

З метою перевірки цього припущення у хворих на ЛХ була досліджена стійкість мембран ЕР до електричного пробою (табл. 2, 3).

Таблиця 2

Величина струму та напруги пробою, а також параметри відносної провідності та питомого опору цитоплазми еритроцитів до і після пробою у хворих на лікарську хворобу, що асоційована з поширеними дерматозами і соматичною патологією

Групи обстежених	I, мкА	U, mB	R, Ом/см	ВП
Практично здорові донори n = 30	352,1±13,2	0,65±0,02	2,31±0,5	3,92±0,8
Псоріаз n = 17	348,05±31,7	0,62±0,03	1,98±0,35	3,13±0,70
Алергодерматози n = 38	395,3±16,54*	0,90±0,04*	3,40 ±0,75*	2,23±0,57*
Мікози n = 10	363,40±26,50	0,65±0,07	1,91±0,30	3,08±0,55
Захворювання ШКТ n = 14	359,16±24,05	0,68±0,05	2,8±0,7	3,16±0,75
Серцево-судинні захворювання n = 13	401,9±9,2*	0,66±0,10	2,78±0,3	2,77±0,50

*Примітка: * p < 0,05 порівняно з контролем*

На підставі аналізу проведених досліджень встановлено достовірне зростання величини струму і напруги електричного пробую мембран, а також показників питомого опору і відносної провідності цитоплазми клітин у хворих на ЛХ при її перебігу на фоні алергодерматозів. На фоні серцево-судинної патології відмічено лише зростання величини струму (див. табл. 2).

Таблиця 3

Час гемолізу при концентрації хлоридної кислоти 0,003 N і 0,005 N у хворих на лікарську хворобу, що асоційована з поширеними дерматозами і соматичною патологією

Групи обстежених	T ₁ (сек) Час гемолізу при 0,003 N HCL	T ₂ (сек) Час гемолізу при 0,005 N HCL
Практично здорові донори n = 30	366,3±38,2	319,2±38,8
Псоріаз n = 17	478,40±29,2*	255,4±25,0
Алергодерматози n = 38	431,00±28,1*	269,7±21,4
Мікози n = 10	410,50±51,6	307,6±28,2
Захворювання ШКТ n = 14	318,90±32,5	251,7±30,0
Серцево-судинні захворювання n = 13	425,30±45,9	254,0±30,6

Примітка: * $p < 0,05$ порівняно з контролем

Про порушення стійкості мембран ЕР хворих на ЛХ свідчили також дані щодо резистентності еритроцитарних мембран до кислотного гемолізу (див. табл. 3).

Зростання часу гемолізу еритроцитів при концентрації гемолітика 0,003 N HCL відмічено при перебігу ЛХ на фоні алергодерматозів та псоріазу. При зростаючій концентрації гемолітика (0,005 N HCL) час гемолізу ЕР мав тенденцію до скорочення в середньому на 20 % у порівнянні з контролем (див. табл. 3). Ймовірно зниження кислотної резистентності мембран приводить до скорочення тривалості життя ЕР і сприяє швидкому виведенню клітин із кровоносного русла [1, 3].

Таким чином, проведені дослідження показали, що у хворих на ЛХ спостерігаються порушення основних еритроцитометричних показників та резистентності еритроцитарних мембран до дії кислотного гемолізу.

Максимальні відхилення розмірів ЕР у бік збільшення їх об'єму і діаметру були виявлені в групах хворих, у яких прояви ЛХ розвивалися на тлі алергодерматозів, серцево-судинних і шлунково-кишкових захворювань. Ознаки істотної перебудови клітинної популяції ЕР із збільшенням частки їх макроформ, зміна електричних характеристик і високий ступінь гемолізу ЕР характерні для хворих на ЛХ. Вірогідно, порушення мембранних структур і функціональна дестабілізація ЕР, скорочення часу їх циркуляції в кровоносному руслі в результаті наростання гемолізу приводять до зменшення числа циркулюючих ЕР, а також до зриву компенсаторно-адаптаційних можливостей організму. Тому можна вважати, що еритроцитарна ланка є чутливою системою, безпосередньо залученою в механізми розвитку сенсibiliзації до ЛЗ. З цієї точки зору еритроцитометричні показники і структурно-функціональний стан мембран ЕР можуть розглядатися як важливі діагностичні критерії для включення в алгоритм обстеження хворих на ЛХ, що дозволить отримати додаткову інформацію про тяжкість процесу, а також можливість проводити ефективну терапію і будувати індивідуальний прогноз перебігу патологічного процесу.

ВИСНОВКИ

1. Еритроцитарна ланка є чутливою системою, безпосередньо залученою в механізми розвитку сенсibiliзації до лікарських засобів, про що свідчить зміна їх еритроцитометричних показників і порушення мембранних структур.
2. Перебудови клітинної популяції еритроцитів із збільшенням частки їх макроформ, зміна електричних характеристик, високий ступінь кислотного гемолізу еритроцитів найчастіше розвиваються у хворих на ЛХ, асоційовану з алергодерматозами (у 41,3% хворих).
3. Зміни показників, що характеризують стан мембран еритроцитів, можна розглядати як важливі діагностичні критерії алгоритму обстеження хворих на ЛХ для отримання додаткової інформації про тяжкість процесу, можливість проведення ефективної терапії, побудову індивідуального прогнозу перебігу патологічного процесу.

Література

1. Васильєва Е.М. Біохімічні особливості еритроцита. Вплив патології (огляд літератури). Біомедична хімія. 2005. Т. 51, вип. 2. С. 118–126.
2. Василенко В.Т. Роль еритроцитів в реакції трансплантаційного імунітету. Архів патології. 1981. Т. 18. С. 25–35.
3. Дробинская О.В. Изучение кислотной резистенции эритроцитов у лиц, постардавших в результате аварии на ЧАЭС. Тезисы докладов II радиобиологического съезда. 1993. Киев. Пушино. Т.1. 319 с.
4. Меньшиков В.В., Меньшикова М. М. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник. М., Медицина, 1987. 368 с.
5. Почтарь М.Е., Зубрихина Г.Н., Луговская С.А., Домов В.В.

Использование современных гематологических анализаторов в клинико-диагностических лабораториях. Клиническая лабораторная диагностика. 1996. № 6. С. 11–17.

6. Руденко С.В., Саид М.К. Реконструкция формы эритроцитов в ходе модифицированного морфологического ответа. Биохимия. 2010. Т. 75, вып. 8. С. 1133–1141.

7. Руденко С.В., Мухамед Хани Румиех, Бондаренко В.П. Морфологическая реакция эритроцитов на изменение электролитного состава среды. Влияние альбумина. Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Серія: біологія. 2007. С.150–156.

8. Сарычева Т.Г., Козинец Г.И. Морфофункциональная характеристика эритрона в норме. Клиническая медицина. 2001. № 5. С. 8–15.

9. Боровская М. К., Кузнецова Э. Э., Горохова В. Г. и др. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАМН. 2010. № 3. С.334–354.

Состояние мембран эритроцитов у больных лекарственной болезнью. Солошенко Э.Н., Узленкова Н.Е., Кондакова А.К., Дунаева А.Е., Ярмак Т.П., Шевченко З.М. – Представлены данные изучения состояния мембран эритроцитов у 92 больных лекарственной болезнью (ЛБ) с острыми и латентными ее формами. Контрольную группу составили 30 практически здоровых доноров. Установлено, что у больных ЛБ наблюдается увеличение макроформ эритроцитов, нарушения электрических характеристик эритроцитарных мембран и высокая резистентность к кислотному гемолизу. Нарушения состояния эритроцитарных мембран наиболее часто наблюдаются у больных ЛБ, ассоциированной с аллергодерматозами. Изучение структурно- функционального состояния эритроцитарных мембран позволит получить дополнительную информацию о тяжести патологического процесса, а также оценить эффективность терапии и построить индивидуальный прогноз течения патологического процесса.

Ключевые слова: лекарственная болезнь, эритроциты, объем, диаметр, электрический пробой, кислотный гемолиз.