

СТАТЬЯ

УДК 616.155.1:616.379-008.64

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
СОРБЦИОННЫХ СВОЙСТВ ЭРИТРОЦИТОВ**

Федосеев Е.Н., Шаповалова О.О., Шамрова Е.А.

*ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет
им. Н.П. Огарёва», Саранск, e-mail: Olgashap1995@mail.ru*

В данной статье представлены результаты экспериментального исследования сорбционных свойств мембран эритроцитов у больных сахарным диабетом с гнойно-некротическими осложнениями. При сахарном диабете из-за нарушенного обмена веществ происходят изменения в строении мембраны эритроцитов. Вследствие этих изменений они перестают выполнять свои различные функции должным образом. Одной из этих функций является сорбционная способность. Эритроциты являются естественными сорбентами веществ, им принадлежит абсолютный приоритет по площади абсорбции среди клеток крови. Проведенный эксперимент позволил оценить сорбционную способность донорских эритроцитов по отношению к компонентам плазмы крови пациентов в условиях развития у них состояния эндогенной интоксикации. В эксперименте использовалась плазма крови 38 больных с инсулиннезависимой формой сахарного диабета с гнойно-некротическими осложнениями нижних конечностей. В качестве сорбентов использовались отмывые донорские эритроциты, совместимые с кровью больных по групповым и резусным антигенам. В ходе проведенного эксперимента было установлено, что сорбционная активность эритроцитов к веществам плазмы различна. При дальнейшем изучении сорбционной способности возможно применение донорских эритроцитов в качестве сорбентов с целью дезинтоксикационной терапии в лечебной практике.

Ключевые слова: эритроциты, сорбция, сахарный диабет, плазма, гипергликемия, сорбент

**EXPERIMENTAL STUDY OF THE SORPTION PROPERTIES
OF RED BLOOD CELLS**

Fedoseev E.N., Shapovalova O.O., Shamrova E.A.

National Research Mordovia State University n.a. N.P. Ogarev, Saransk, e-mail: Olgashap1995@mail.ru

This article presents the results of an experimental study of the sorption properties of erythrocyte membranes in patients with diabetes mellitus with pyo-necrotic complications. In diabetes mellitus due to impaired metabolism, there are changes in the structure of the membrane of red blood cells. As a result of these changes, they cease to perform their various functions properly. One of these functions is the sorption capacity. Erythrocytes are natural sorbents of substances, they have absolute priority in the area of absorption among blood cells. The experiment made it possible to evaluate the sorption capacity of donor red blood cells in relation to the components of blood plasma in patients with the development of their endogenous intoxication. Blood plasma of 38 patients with insulin-independent form of diabetes mellitus with purulent necrotic complications of the lower extremities was used in the experiment. As sorbents were used washed donor red cells compatible with the patients blood group and the rhesus antigens. During the experiment it was found that the sorption activity of red blood cells to plasma substances is different. In further study of the sorption capacity may use donor red blood cells as sorbents for detoxification therapy in medical practice.

Keywords: erythrocytes, sorption, diabetes mellitus, plasma, hyperglycemia, sorbent

Сахарный диабет и его осложнения являются серьезной проблемой современного здравоохранения. В настоящее время в мире сахарным диабетом болеют более 366 млн чел. В России от сахарного диабета страдает более 6 млн чел. Наблюдается тенденция к росту заболеваемости этим недугом во всем мире. Развитие сахарного диабета более чем на 60% обусловлено генетической предрасположенностью, которая реализуется с помощью факторов внешней среды. Это связано с определенными комбинациями генов, что при влиянии различных факторов может привести к развитию заболевания. Основными звеньями патогенеза являются дисфункция В-клеток поджелудочной железы с уменьшением секреции инсулина и снижением захвата глюкозы мышцами и печенью. При сахарном диа-

бете страдают все виды обмена. Особенно нарушается метаболизм глюкозы, происходит увеличение ее концентрации в крови. При декомпенсации заболевания возникают различные осложнения, которые могут привести к нарушению жизненно важных функций [1].

Частым осложнением сахарного диабета являются гнойно-некротические заболевания различной этиологии и локализации и, прежде всего, поражения нижних конечностей. Сложный характер течения заболевания и высокая степень инвалидизации побуждали нас к поиску новых методов лечения данной патологии.

Одним из факторов, который способствует развитию осложнений, является синдром эндогенной интоксикации. Основные причины, которые приводят к развитию этого

синдрома, делятся на две группы. К первой группе относятся деструктивные процессы, в результате которых в крови накапливается избыточное количество продуктов нарушенного метаболизма и различных биологически активных веществ, которые негативно влияют на функционирование жизненно важных систем организма. Во вторую группу входят нарушения функционирования физиологических систем, которые отвечают за инактивацию и выведение как естественных метаболитов, которые образуются в процессе обмена веществ, так и выведение метаболитов, которые образуются в результате нарушенного обмена. Его не случайно называют синдромом «взаимного отягощения» и рассматривают как совокупное действие ряда патогенных факторов: генерализации инфекции, декомпенсации всех видов обмена, блокады механизмов иммунной защиты и нейроэндокринной регуляции [2].

Продукты неуправляемого протеолиза, нарушенного обмена, микробные токсины, разнообразные биологически активные вещества прорываются за пределы первичного патологического очага и оказываются в кровяном русле. Вначале происходит сорбция токсинов на белках плазмы крови, прежде всего альбуминах, и гликокаликсе эритроцитов. По мере накопления продуктов нарушенного обмена происходит увеличение их концентрации в плазме крови [3]. Таким образом, можно говорить об уровне токсических веществ на поверхности эритроцитов и в плазменном окружении.

Разорвать этот порочный круг могут экстренные дезинтоксикационные мероприятия. В последние годы при лечении гнойно-некротических осложнений у диабетических больных все большее применение находят методы эфферентной терапии, позволяющие быстро устранить симптомы интоксикации и временно нормализовать звенья гомеостаза.

К числу таких методов относится гемосорбция. Используемые с этой целью угли и ионообменные смолы обладают достаточно полным дезинтоксикационным, реологическим и иммуностимулирующим эффектом. В то же время они являются гетерогенными по отношению к человеческому организму, а именно, агрессивными по отношению к форменным элементам крови и белкам. Так, к осложнениям карбогемосорбции относятся гипохромная анемия, геморрагический синдром, резкие колебания уровня глюкозы крови.

Поиск более физиологичных методов детоксикации привел к использованию в качестве «очищающих» систем гомологичных и гетерологичных донорских органов.

В клинической практике с этой целью использовалось экстракорпоральное подключение донорской печени, почек, легких, селезенки, плаценты. В.К. Осипов и соавт. [4] в качестве сорбента при лечении онкологических больных применили отмытые донорские эритроциты.

Мы продолжили работу в данной области, используя донорские эритроциты в качестве сорбента при инкубации их с плазмой крови больных страдающих сахарным диабетом, с гнойно-некротическими поражениями нижних конечностей.

Цель исследования: проведение экспериментальных исследований, позволяющих оценить сорбционную способность донорских эритроцитов по отношению к компонентам плазмы крови пациентов в условиях развития у них состояния эндогенной интоксикации.

Материалы и методы исследования

В исследовании приняли участие 38 больных сахарным диабетом второго типа с гнойно-некротическими осложнениями нижних конечностей (инфицированная рана, влажная диабетическая гангрена стопы, гнилостно-некротическая флегмона, пенетрирующая язва, влажная диабетическая гангрена стопы). Возраст больных: от 57 до 65 лет. Мужчин – 14, женщин – 24.

В качестве биологических сорбентов использовались донорские эритроциты со сроком хранения до 5 суток, совместимые с кровью больных по групповым и резусным антигенам. В эксперименте исследовалась их поглотительная способность по отношению к различным веществам, содержащимся в плазме больных сахарным диабетом с сопутствующими ангиопатиями разной степени выраженности.

Кровь больных забирали в центрифужные пробирки, стабилизируя ее 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 1:9. В процессе центрифугирования при 2000 об/мин в течение 10 мин разделяли ее на плазму и эритроциты. Донорские эритроциты, трижды отмытые изотоническим раствором хлорида натрия, инкубировали с таким же количеством плазмы больного в течение 10 мин. Затем плазму отделяли от эритроцитов (сорбента) центрифугированием в прежнем режиме.

Сорбционную активность эритроцитов оценивали по уровню в плазме (до и после сорбции) белковых, липидных и углеводных компонентов: альбумина, фибриногена, общего белка, мочевины, среднемолекулярных пептидов, триглицеридов, общего холестерина, глюкозы. Результаты исследования отражены в таблице.

Изменение биохимических показателей плазмы больных сахарным диабетом при сорбции на эритроцитах донора (n = 38, P < 0,001)

Показатели	До сорбции ($M_1 \pm m_1$)	После сорбции ($M_2 \pm m_2$)
СМП, ед. опт. плотн.:		
254 нм	0,318 ± 0,006	0,256 ± 0,006
282 нм	0,263 ± 0,009	0,222 ± 0,009
Мочевина, ммоль/л	6,54 ± 0,30	3,91 ± 0,28
Альбумин, г/л	30,05 ± 0,44	23,04 ± 0,47
Фибриноген, г/л	5,93 ± 0,29	4,41 ± 0,27
Общий белок, г/л	76,40 ± 1,51	64,11 ± 1,49
Холестерин, ммоль/л	4,67 ± 0,21	3,19 ± 0,17
Триглицериды, ммоль/л	2,35 ± 0,15	1,69 ± 0,09
Глюкоза, ммоль/л	12,08 ± 0,44	6,92 ± 0,34

Результаты исследования и их обсуждение

Эффективность сорбции по отношению к веществам белковой, липидной и углеводной природы оказалась различной. Так, в результате эритросорбции уровень холестерина упал на 31,7%, а триглицеридов – на 28,2%. Концентрация глюкозы в плазме крови уменьшилась на 42,7%, приближаясь к ее нормальному значению. В меньшей мере сорбировались белковые молекулы. Так, содержание альбуминов упало на 23,3%, а уровень фибриногена снизился на 25,6%. Уменьшение белковых показателей плазмы привело к снижению вязкости плазмы [5]. Уровень среднемолекулярных пептидов – продуктов распада эндогенных белков снизился в среднем на 17,5%. Содержание мочевины уменьшилось после сорбции на 40,2%. В целом уровень сорбции составил более 16%. Данные биохимических показателей плазмы при сорбции на эритроцитах донора представлены в таблице.

Механизм сорбирования плазменных компонентов на поверхности эритроцитов, на наш взгляд, заключается в следующем. Молекулы веществ, взвешенные в плазме и фиксированные на эритроцитарной мембране, находятся в состоянии динамического равновесия, т.е. количество вещества, переходящее в единицу времени из плазмы на поверхность эритроцитов и обратно, одинаково. При отмывании эритроцитов происходит частичное освобождение их поверхности от находящихся на ней веществ. Если теперь отмывые эритроциты поместить в плазму, то состояние такой системы будет неравновесным, т.е. поток молекул из плазмы к поверхности эритроцитов превы-

сит обратный поток. Со временем поток из плазмы к эритроцитам ослабевает, а встречный поток – усиливается. Поэтому через некоторое время эти потоки выравниваются и количество субстратов на поверхности эритроцитов и в плазме перестает изменяться. Состоянию равновесия теперь соответствует уже меньшее количество молекул в плазме, часть которых осела на мембранах эритроцитов.

Приведенные результаты качественно согласуются с аналогичными исследованиями. Так, при эритросорбции плазмы онкологических больных В.К. Осиповым и соавт. также обнаружено падение уровня фибриногена и среднемолекулярных пептидов (более высокое), общего белка и мочевины (более низкое).

Полученные результаты позволяют говорить об универсальной способности отмывых донорских эритроцитов к сорбированию компонентов плазмы. Являясь естественными сорбентами веществ, эритроциты выполняют эту функцию в нашем организме непрерывно. Они не только осуществляют присущую им газотранспортную функцию, но и участвуют в поддержании метаболизма во всем организме. Способность эритроцитов сорбировать на поверхности мембран различные вещества обеспечивает трофическую, дезинтоксикационную, буферную, обменную функции системы крови. Эритроциты быстро и селективно переносят необходимые субстанции из крови в ткани, удаляют из крови метаболиты, денатурированные белки, атерогенные липиды и другие вещества с повышенной химической активностью, удерживают в диапазоне нормы содержание в плазме ряда веществ, в частности ионов водорода (H^+).

Среди клеток крови именно эритроцитам принадлежит абсолютный приоритет по площади абсорбции. Благодаря вращению и деформации они с легкостью проходят по узкой части капилляров. Во время вращения эритроцитов часть плазменных молекул отбрасывается к стенке и попадает в пристеночный слой. Так же при прохождении каждого эритроцита происходит обмен молекул пристеночного и обменного слоя кровеносных капилляров на молекулы, которые находятся на поверхности эритроцитов. Вещества, перенесенные с поверхности эритроцитов в пристеночный слой сосудов микроциркуляторного русла, вовлекаются в транскапиллярный обмен и частично поступают в интерстициальное пространство где участвуют в тканевых биохимических процессах и в клеточном обмене. Часть из них поступает в лимфу, большая часть возвращается в кровоток через стенку кровеносных капилляров и венул. С увеличением просвета капилляра над размером эритроцита процесс обмена завершается [6].

Адсорбция веществ на поверхности эритроцитов поддерживается нековалентными связями гемоглобина. Однако при определенных условиях к этим связям присоединяются различные субстанции и они закрываются, когда их концентрация внутри эритроцита становится выше определенных величин [7].

У больных сахарным диабетом гнойно-некротические процессы протекают на фоне гипергликемии, оказывающей тормозящее воздействие на процесс заживления раны. По мере увеличения содержания глюкозы на поверхности красных клеток крови происходит накопление ее внутри. Это сопровождается морфофункциональными изменениями в эритроцитах. При этом способность адсорбировать различные вещества увеличивается. Увеличение содержания глюкозы выше нормы внутри эритроцитов приводит к образованию гликозилированного гемоглобина, который известен как индикатор сахарного диабета [8].

По мере увеличения процента гликозилированного гемоглобина происходит уменьшение способности эритроцитов абсорбировать на своей поверхности белки, липиды, углеводы и другие вещества. Относительное уменьшение транспорта глюкозы на эритроцитах нарушает регуляцию углеводного обмена. Возможно, это является одним из факторов развития «толерантности» к инсулину. Со временем все большая часть глюкозы транспортируется в плазме крови и в конечном итоге появляются симптомы сахарного диабета 2 типа. Не исключено, что снижается транспорт инсулина на по-

верхности эритроцитов. Всем этим обосновывается наличие латентной формы сахарного диабета, для которой характерно увеличение глюкозы на поверхности эритроцитов. К гемоглобину могут присоединяться продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и другие вещества [9].

Гипергликемия приводит к изменениям в мембране эритроцита и его цитоплазме. Глюкозотоксичное действие на эритроциты проявляется нарушением взаимодействия фосфолипидного бислоя мембран с цитоскелетом, трансмембранной асимметрией липидных и белковых молекул, возрастанием микровязкости липидного бислоя мембран, изменением активности ионтранспортирующих мембранных ферментных систем. Возникающие в условиях гипергликемии метаболические и функциональные изменения эритроцитов приводят к нарушению микроциркуляции крови и развитию гипоксии тканей. Нарушение в обмене углеводов ведет к полиморфизму размеров эритроцитов, сферичности формы, а также появлению эритроцитов лишенных гемоглобина. Происходящие изменения в системе эритрона в условиях гипергликемии снижают срок жизни эритроцита и приводят к уменьшению количества эритроцитов, что в сочетании со снижением деформируемости усиливает гипоксию тканей [10].

Тяжесть нарушений усугубляется по мере развития осложнений сахарного диабета, а именно – формированием макро- и микроангиопатий и вторичным инфицированием пораженных тканей. Образующиеся экзо- и эндогенные токсины проявляют свое разрушительное действие на клеточные структуры, в том числе и удаленные от очага воспаления и, в частности, эритроциты. Наиболее тяжелые последствия для клетки связаны с активацией ПОЛ. Субстратом в этих реакциях выступают ненасыщенные жирнокислотные остатки фосфолипидов клеточных мембран. Продукты ПОЛ – органические перекиси и гидроперекиси – обладают особо выраженными токсическими свойствами. Целью для воздействия гидроксильных радикалов являются нуклеиновые кислоты и липиды мембран. В результате этого воздействия происходит нарушение бислоевой асимметрии липидов, снижается текучесть мембран и повышается их проницаемость [11]. Модификации подвергаются и мембранные белки, в частности изменяется активность мембраносвязанной Na^+ , K^+ -АТФазы. Происходит рассогласование Ca^{2+} -связывающих и Ca^{2+} -транспортирующих механизмов, что в ко-

нечном итоге приводит к нарушению внутриклеточного кальциевого гомеостаза и активации фосфолипаз и протеаз. Возникает «порочный круг»: недостаток кислорода стимулирует свободнорадикальные процессы в клетке, а активация ПОЛ вызывает повреждение мембран и еще больше усугубляет дефицит энергии. При повреждении мембраны нарушается способность эритроцита к деформации и он испытывает затруднение при прохождении через капилляры, это приводит к снижению кислородного обмена в капиллярах, что в свою очередь снижает транспорт кислорода в ткани, так как часть красных клеток не попадает в микроциркуляторное русло.

Выводы

1. Обладая универсальной способностью к адсорбции-десорбции различных субстанций, эритроциты являются связующим звеном между плазмой и тканями и тем самым обеспечивают гомеостатические функции нашего организма.

2. В условиях развития синдрома эндогенной интоксикации и метаболических нарушений у больных сахарным диабетом ухудшаются сорбционные и реологические свойства аутоэритроцитов.

3. Отмытые донорские эритроциты могут быть использованы в качестве естественных сорбентов с целью дезинтоксикационной терапии в лечебной практике.

Список литературы

1. DeFronzo RA. From the triumvirate to the ominous octet: A new paradigm for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes*. 2009. vol. 58 (4). P. 773–795.
2. Удовиченко О.В., Грекова Н.М. Диабетическая стопа: руководство для врачей. М., 2010. С. 271.
3. Кузнецов П.Л., Борзунов В.М. Синдром эндогенной интоксикации в патогенезе вирусного гепатита // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2013. № 4. С. 44–50.
4. Осипов В.К., Шатров В.А., Ефимов К.В. Способ плазмасорбции у онкологических больных с помощью донорских эритроцитов // Влияние инфузионной терапии на гомеостаз. Саранск, 1993. С. 47–53.
5. Шамров Н.И., Шамрова Е.А. Определение вязкости биологической жидкости в малом объеме // Научный медицинский вестник. 2017. № 1 (7). С. 77–82.
6. Левтов В.А., Регирер С.А., Шадрин Н.Х. Реология крови. М.: Медицина, 1982. С. 270.
7. Гареев Р.А., Фундаментальные и прикладные аспекты адсорбционно-транспортной функции эритроцитов // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2011. № 2. С. 22–24.
8. Дедов И.И., Шестакова М.В., Галстян Г.Р. Распространенность сахарного диабета 2 типа у взрослого населения России (исследование NATION) // Сахарный диабет. 2016. № 2. С. 104–112.
9. Першина А.С., Киреева Н.А., Елисеева О.С., Гарипова М.И. Изучение эритроцитарного транспорта инсулина в норме и при сахарном диабете первого типа // Вестник ОГУ. 2010. № 2 (108). С. 141–143.
10. Фабричнова А.А., Куликов Д.А., Мисникова И.В., Ковалева Ю.А., Семенов А.Н., Приезжев А.В., Кошелев В.Б. Изменения реологических свойств крови при сахарном диабете // Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение. 2018. № 2 (23). С. 26–34.
11. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы // Бюллетень сибирской медицины. 2006. № 2. С. 62–69.