



УДК: 612.111.6:618.14-002

**КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ
МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЭНДОМЕТРИТЕ**Суняйкина¹ О.А., Барсук² А.А., Филиппова³ О.В.¹ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет», г. Курск, Российская Федерация²ОБУЗ «Областной перинатальный центр» Курской области, г. Курск, Российская Федерация³ФГБОУ ВОФ «Первый Московский государственный медицинский университет им.И.М.Сеченова», г. Москва, Российская Федерация

Аннотация. У 42 пациенток репродуктивного возраста с верифицированным диагнозом хронический эндометрит в стадии неполной ремиссии, оперированных по поводу бесплодия, изучен белково-липидный спектр мембраны эритроцитов. До начала лечения в мембране установлены значительные изменения в уровне белков, ответственных за структурообразование, стабилизацию, формообразование и гибкость мембраны, внутриклеточный метаболизм. Выявлены нарушения в содержании липидов, составляющих основу двойного липидного каркаса клеточной мембраны и играющих основную роль в упорядочивании белковых макромолекул и нормальном метаболизме эритроцитов. Проведенная послеоперационная традиционная фармакологическая терапия нормализовала 14,3% измененных до лечения параметров, корригировала, но не до значений нормы, 38,1%, без изменений осталось 47,6% показателей. Дополнительное применение Гепона и Цитофлавина оказалось более эффективным

Ключевые слова: хронический эндометрит, коррекция нарушений содержания белков и липидов мембраны эритроцитов.

Введение. Современное течение воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин характеризуется тенденцией к генерализации и хронизации, способствуя вовлечению в патологический процесс иммунной, эндокринной систем и появлению как локальной, так и общесоматической симптоматики. Среди патологических процессов эндометрия, снижающих его репродуктивный потенциал, значительную долю занимает хронический эндометрит (ХЭ) – клинко-морфологический синдром, при котором длительность, глубина и степень повреждения слизистой оболочки матки определяют клиническую симптоматику болезни, основанную на нарушении циклической биотрансформации и рецептивности эндометрия. Нарастающая тенденция частоты нарушений репродуктивного здоровья женщин, негативные демографические процессы предопределяют актуальность всестороннего изучения патогенеза ХЭ и разработки новых схем лечения [1-3].

Известны нарушения содержания и соотношения белков и липидов мембраны эритроцитов при гинекологических заболеваниях [4; 5], но учитывая, что в литературе не освещены вопросы патогенетической роли эритроцитов в возникновении и развитии ХЭ и не изучена возможность фармакологической коррекции этих нарушений **целью** настоящего исследования стало установление возможностей коррекции нарушений содержания белков и липидов в мембране эритроцитов при ХЭ.

Материал и методы. Под постоянным наблюдением в гинекологическом отделении Курского городского родильного дома находились 42 пациентки репродуктивного возраста (18-35 лет). Включение больных в исследование осуществлялось на основании информированного согласия. Больных методом случайной рандомизации разделили на 2 равные группы, всем проводили комплексное клинико-инструментальное обследование по общепринятым стандартам, при этом во всех случаях имела

место верификация диагноза хронический эндометрит в стадии неполной ремиссии. У всех женщин отсутствовали сопутствующие заболевания или они были в стадии ремиссии, всем было проведено эндоскопическое оперативное вмешательство по поводу эндометрит-ассоциированного бесплодия. В после операционном периоде пациентки первой группы получали традиционное лечение (антибактериальные с учетом чувствительности возбудителя, антимикотические, противовирусные, нестероидные противовоспалительные препараты, пробиотики, средства направленные на восстановление микрофлоры влагалища). Вторая группа дополнительно получали Гепон (10 мг лиофилизированного порошка растворенного в воде, внутрь, через 24 часа, №14) и Цитофлавин (по 2 таблетки внутрь, через 12 часов, №14, в каждой таблетке: янтарная кислота – 300 мг, инозин (рибосин) – 50 мг, никотинамид – 25 мг, рибофлавин – 5 мг). Изучены также лабораторные показатели в эритроцитах 16 здоровых женщин того же возраста, сформировавших контрольную группу.

Лабораторное обследование осуществляли сразу при поступлении в стационар и при выписке на 14-е сутки. До начала комплексного лечения и после него получали эритроциты из 10 мл гепаринизированной крови. Мембраны эритроцитов выделяли методом G.T. Dodge [6], липиды мембран определяли методом тонкослойной хроматографией [7]. Электрофорез белков проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных

пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli [8], белки окрашивали Кумаси голубым R-250.

Статистическую обработку результатов исследования проводили по общепринятым критериям вариационно-статистического анализа с вычислением средних величин (M), ошибки средней арифметической (m) с помощью пакета компьютерных программ Microsoft Excel, 2010. Существенность различий оценивали по U-критерию. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение.

До начала лечения установлено снижение в эритроцитарной мембране уровня α - и β -спектрина, анкирина, анионтранспортного белка (АТБ), паллидина, дематина, глицеральальдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Г-3-ФД) и глутатион-S-трансферазы (Г-S-T), повышение содержания белка полосы 4.1, актина и тропомиозина при нормальном уровне белка полосы 4.5. Проведенное оперативное и традиционное фармакологическое лечение нормализует представительность в мембране эритроцитов α - и β -спектрина и тропомиозина, корректирует, но не до параметров нормы, содержание анкирина, паллидина, дематина и актина, не влияет на уровень АТБ, белка полосы 4.1, Г-3-ФД и Г-S-T. Применение Гепона и Цитофлавина дополнительно нормализует представительность АТБ и в еще большей степени корректирует уровень анкирина, белка полосы 4.1, паллидина, актина и Г-S-T (табл. 1).

Таблица 1

Белки мембраны эритроцитов у пациенток с ХЭ до и после лечения (M±m)

Показатели	1	2	3	4
	Здоровые	Больные		
		До лечения	Традиционное лечение	ТЛ + гепон + цитофлавин
α -спектрин	102,4±2,7	92,8±2,3* ¹	97,4±2,0* ²	103,0±3,3* ²
β -спектрин	120,1±3,6	102,9±2,4* ¹	119,5±2,5* ²	123,3±3,7* ²
Анкирин	94,2±1,6	37,8±1,9* ¹	46,6±2,4* ^{1,2}	63,0±3,1* ¹⁻³
АТБ	175,4±3,3	191,6±4,3* ¹	193,5±3,7* ¹	180,5±2,8* ^{2,3}
4.1	42,4±1,6	82,5±1,7* ¹	78,2±1,9* ¹	55,2±1,7* ¹⁻³
Паллидин	92,4±2,8	47,4±1,4* ¹	59,4±2,2* ^{1,2}	67,2±2,4* ¹⁻³
4.5	101,5±2,7	107,4±4,5	102,1±3,9	106,3±5,4
Дематин	68,3±1,9	21,9±1,1* ¹	31,9±1,8* ^{1,2}	28,8±1,6* ^{1,2}
Актин	78,5±1,6	90,4±1,9* ¹	84,4±2,2* ^{1,2}	70,1±2,4* ¹⁻³
Г-3-ФД	47,8±2,1	29,3±1,5* ¹	32,5±1,8* ¹	29,9±2,0* ¹
Тропомиозин	48,7±1,5	62,9±2,1* ¹	50,2±1,7* ²	49,9±2,2* ²
Г-S-T	68,6±1,4	47,2±1,3* ¹	51,6±2,3* ¹	57,3±3,0* ¹⁻³

Примечание: на этой в таблице 2 звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p < 0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны отличия; единицы измерения показателей – мг%

У пациенток ХЭ при поступлении в клинику выявлено снижение в эритроцитарной мембране содержания фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилсерина (ФС), фосфатидилинозитола (ФИ), глицерофосфолипидов (ГФЛ – сумма ЛФХ, ФХ, ФЭ, ФС и ФИ), сфингомиелина (СМ), фосфолипидов (ФЛ – сумма ГФЛ и СМ), повышение уровня лизофосфатидилхолина (ЛФХ), холестерина (Х), эфиров холестерина (ЭХ) и триацилглицеролов (ТАГ), при нормальном содержании фосфатидилэтаноламина (ФЭ), суммы моно- и

диацилглицеролов (МАГ, ДАГ) и незэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК). Проведенное традиционное лечение приближает к параметрам здоровых доноров ЛФХ, ФС, ФИ, ГФЛ, СМ и ФЛ, но не влияет на представительность ФХ, Х, ЭХ и ТАГ. Использование в фармакологической терапии послеоперационного периода Гепона и Цитофлавина дополнительно нормализует содержание ЛФХ, ФИ и СМ, в еще большей степени корректирует уровень ФХ, ГФЛ и ФЛ (табл. 2).

Таблица 2

Липиды мембраны эритроцитов у пациенток с ХЭ до и после лечения (M±m)

Показатели	1	2	3	4
	Здоровые	Больные		
		До лечения	Традиционное лечение	ТЛ + гепон + цитофлавин
ФХ	28,1±0,8	19,5±0,7 ^{*1}	20,9±1,1 ^{*1}	24,3±1,3 ^{*1-3}
ЛФХ	4,2±0,1	6,4±0,09 ^{*1}	5,4±0,1 ^{*1,2}	4,5±0,3 ^{*2,3}
ФЭ	24,0±1,0	24,2±0,9	23,4±1,4	23,9±2,1
ФС	28,4±0,9	17,5±0,7 ^{*1}	22,1±1,1 ^{*1,2}	24,7±2,1 ^{*1,2}
ФИ	4,5±0,06	3,8±0,04 ^{*1}	4,1±0,06 ^{*1,2}	4,4±0,1 ^{*2,3}
ГФЛ	89,2±2,7	71,4±1,9 ^{*1}	75,9±1,7 ^{*1,2}	81,8±1,8 ^{*1-3}
СМ	14,1±0,5	11,9±0,6 ^{*1}	12,7±0,7 ^{*1,2}	13,9±0,9 ^{*2,3}
ФЛ	103,3±3,3	83,3±2,4 ^{*1}	88,6±1,9 ^{*1,2}	95,7±2,4 ^{*1-3}
Х	32,4±1,1	40,5±1,4 ^{*1}	38,9±1,8 ^{*1}	39,9±2,0 ^{*1}
ЭХ	28,1±1,2	35,9±1,4 ^{*1}	32,3±2,2 ^{*1}	31,5±3,1 ^{*1}
ТАГ	13,2±0,6	16,5±0,5 ^{*1}	17,3±1,1 ^{*1}	16,3±0,9 ^{*1}
ДАГ+МАГ	11,0±0,4	10,0±0,6	10,5±0,7	10,7±0,5
НЭЖК	2,9±0,1	2,8±0,04	3,0±0,1	3,1±0,8

Таким образом, можно констатировать, что у пациенток с ХЭ до начала лечения оказались измененными от значений здоровых доноров соответственно 84% белков и липидов мембраны эритроцитов. Полученные нами данные свидетельствуют о значительных изменениях со стороны белков, ответственных за структурообразование и стабилизацию мембраны эритроцитов (α - и β -спектрин, дематин – основные белки цитоскелета, анкирин, белок полосы 4.1, паллидин), формообразование и гибкость мембраны (актин, тропомиозин), внутриклеточный метаболизм (Г-3-ФД, Г-S-T).

Выявленные изменения содержания и соотношения липидного состава мембраны, в первую очередь, снижение содержания мембранных ГФЛ и СМ, составляющих основу двойного ли-

пидного каркаса клеточной мембраны и играющих основную роль в упорядочивании белковых макромолекул и нормальном метаболизме эритроцитов наряду с изменением архитектоники белков, приводит к серьезным нарушениям в функциональных свойствах эритроцитов периферической крови при ХЭ даже в стадии ремиссии.

Проведенное комплексное традиционное лечение нормализовало 14,3% измененных до лечения параметров, корректировало, но не нормы, 38,1% и остались без изменения 47,6% показателей. Дополнительное введение в традиционную фармакотерапию Гепона и Цитофлавина оказалось более эффективным, так как нормализовало 33,3%, корректировало 42,9% параметров белково-липидного спектра эритроцитов. Без изменений осталось 23,8% показателей (табл. 1,2).

С учетом данных литературы у пациенток с



ХЭ выявлены выраженные иммунные и оксидантные нарушения как на системном, так и на местном уровне, недостаточно эффективно поддающиеся коррекции [9; 10]. Зрелые эритроциты не способны синтезировать белки и липиды, поддержание и изменения их содержания и соотношения обусловлено микроокружением эритроцитов, а именно составом плазмы крови, который существенно изменяется при патологии, что в свою очередь оказывает существенное влияние на морфологию клетки, липидно-белковые взаимодействия в мембране эритроцитов и обусловленную последними активность ее ферментных систем [11, 12].

Исходя из литературы, в наших исследованиях для коррекции эритроцитарных нарушений использованы препараты с иммуномодулирующей активностью Гепон и антигипоксической и антиоксидантной Цитофлавин. По-видимому, оба препарата не только влияют на активность иммунокомпетентных клеток, но и стабилизируют метаболизм клеток миометрия, что и лежит в основе их коррекции иммунных и метаболических нарушений по сравнению со стандартной фармакотерапией в условиях ХЭ в стадии неполной ремиссии [13], что меняет состав микроокружения эритроцитов и объясняет положительное влияние препаратов на мембрану эритроцитов. В тоже время нельзя исключить прямого воздействия на белково-липидный спектр эритроцитарной мембраны.

Заключение. Полученные результаты подтверждают важную роль эритроцитов в поддержании как общего, так и иммунного, гомеостаза у больных ХЭ и свидетельствуют о том, что фармакотерапия при данном заболевании не оказывает адекватного корригирующего влияния на нарушенные параметры мембраны эритроцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. Хронический эндометрит: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 64 с.
2. Шешукова Н.А., Макаров И.О., Овсянникова Т.В. Функциональный потенциал эндометрия у больных с гиперпластическими процессами слизистой тела матки в сочетании с хроническим эндометритом // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. 2011. Т. 10. № 6. С.22-25.
3. Кулаков В.И., Шуршалина А.В. Хронический

эндометрит как причина нарушения репродуктивной функции // Гинекология. 2012. Т. 14. № 4. С.16-18.

4. Взаимосвязь коррекции иммунных и оксидантных нарушений со структурно-функциональными свойствами эритроцитов при хронических сальпингоофоритах / А.А. Конопля, А.В. Караулов, А.И. Конопля, В.П. Гаврилюк. Курск: Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2009. 180 с.

5. Клинический опыт совместного использования иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов в клинической практике / А.И. Конопля, В.П. Гаврилюк, А.Л. Локтионов, А.А. Конопля, Н.А. Быстрова. Курск: Изд-во МУП «Курская городская типография», 2015. 160 с.

6. Dodge G.T., Mitchell C., Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys, 1963, № 100, pp. 119-30.

7. Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Ефремова С.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Лаб. дело. 1984. № 4. С. 205-6.

8. Laemli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 1970, № 227, p. 680.

9. Магнитоинфрокрасная лазерная (квантовая) терапия в коррекции иммунометаболических нарушений при хроническом эндометрите / С.А. Гавриш, А.А. Конопля, А.Л. Локтионов, Н.А. Конопля // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2015. Т. 14. № 3. С. 516-524.

10. Внутривенное лазерное облучение крови в коррекции иммунных нарушений у пациенток с хроническим эндометритом / А.А. Конопля, С.А. Гавриш, А.И. Конопля, А.Л. Локтионов // Вопросы курортологии физиотерапии и лечебной физкультуры. 2016. Т. 93. № 5. С. 19-22.

11. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменение при патологиях разного генеза / М.К. Боровская, Э.Э. Кузнецова, В.Г. Горохова, Л.Б. Корякина, Т.Е. Курильская, Ю.И. Пивоваров // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. 2010. Т. 73. № 3. С. 334-54.

12. Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность // Успехи современной биологии. 2010. Т. 130. № 6. С. 587-602.

13. Клинико-иммунологическая эффективность включения гепона и цитофлавина в комплексное лечение хронического эндометрита / А.А. Конопля, С.А. Гавриш, А.Л. Локтионов, Н.А. Быстрова // Современные проблемы науки и образования. 2015. № 4. URL: <http://www.science-education.ru/127-21216> (дата обращения: 11.08.2015)





CORRECTION OF DISORDERS IN MAINTENANCE OF PROTEINS AND LIPIDS IN ERYTHROCYTE'S MEMBRANES IN CHRONIC ENDOMETRITIS

Sunyaykina¹ O.A., Barsuk² A.A., Filippova³ O.V.

¹Kursk state medical university, Kursk, Russian Federation

²Regional perinatal centre of Kursk region, Kursk, Russian Federation

³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Annotation. At 42 patients of reproductive age with verified diagnosis of chronic endometritis in incomplete remission, stage, operated on subject of sterility, was studied protein-lipid spectrum of erythrocyte's membrane. Before start of treatment in membrane were established significant changes in representativeness of proteins, what are in charge of structure formation, stabilization, formation and flexibility of membrane, intracellular metabolism. Found disorders in maintenance of lipids, what form double lipid carcass of cell's membrane and play main role in arrangement of protein macromolecules and normal metabolism of erythrocytes. Performed postoperative traditional pharmacological therapy normalized 14,3% of parameters, what was changed before treatment, corrected, but not till normal indices, 38,1%, 47,6% of indices remained the same. Additional application of Hepon and Cytoflavin turned out to be more effective.

Key words: chronic endometritis, correction of disorders in maintenance of proteins and lipids in membrane of erythrocytes.

REFERENCES

1. Suhij G.T., Shurshalina A.V. Chronic endometritis: guidelines. M.: GJeOTAR-Media, 2013. 64 p.
2. Sheshukova N.A., Makarov I.O., Ovsjannikova T.V. Funcional potential of endometrium at the patients with hyperplastic processes of uterine body mucosa in combination with chronic endometritis. Questions of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, 2011, vol. 10, № 6, pp.22-25 (in Russian)
3. Kulakov V.I., Shurshalina A.V. Chronic endometritis as a reason of reproductive function disruption. Gynecology, 2012, vol. 14, № 4, pp.16-18 (in Russian)
4. Interconnection between correction of immune and antioxidant disorders and structural-functional properties of erythrocytes in chronic salpingoophoritis / A.A. Konoplja, A.V. Karaulov, A.I. Konoplja, V.P. Gavriljuk. Kursk: Publishing house SEI HPE KSMU of Roszdrav, 2009. 180 p.
5. Clinical experience of joint use of immunomodulators, antioxidants and membrane protectors in clinical practice / A.I. Konoplja, V.P. Gavriljuk, A.L. Loktionov, A.A. Konoplja, N.A. Bystrova. Kursk: Publishing house MUE «Kursk town typography», 2015. 160 p.
6. Dodge G.T., Mitchell C., Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes. Arch. Biochem. Biophys, 1963, № 100, pp. 119-30.
7. Krylov V.I., Vinogradov A.F., Efremova S.I. Method of thin-layer chromatography of lipids in erythrocyte's membranes. Lab. Work, 1984, № 4, pp. 205-6 (in Russian)
8. Laemli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, 1970, № 227, p. 680.
9. Magnetic infrared laser therapy (quantum) therapy in correction of immune-metabolic disorders in chronic endometritis / S.A. Gavrish, A.A. Konoplja, A.L. Loktionov, N.A. Konoplja. System analysis and management in biomedical systems, 2015, vol. 14, № 3, pp. 516-524 (in Russian)
10. Intravenous laser blood irradiation in correction of immune disorders at the patients with chronic endometritis / A.A. Konoplja, S.A. Gavrish, A.I. Konoplja, A.L. Loktionov. Questions of kurortology, physiotherapy and physical therapy, 2016, vol. 93, № 5, pp. 19-22 (in Russian)
11. Structural-functional characteristics of erythrocyte's membrane and its change in pathologies of different genesis / M.K. Borovskaja, Je.Je. Kuznecova, V.G. Gorohova, L.B. Korjakina, T.E. Kuril'skaja, Ju.I. Pivovarov. Bulletin ESSC SC RAMS, 2010, vol. 73, № 3, pp. 334-54 (in Russian)
12. Shishkina L.N., Shevchenko O.G. Lipids of blood erythrocytes and its functional activity. Progresses of contemporary biology, 2010, vol. 130, № 6, pp. 587-602 (in Russian)
13. Clinical-immunological effectivity of Hepon and Cytoflavin inclusion in complex treatment of chronic endometritis / A.A. Konoplja, S.A. Gavrish, A.L. Loktionov, N.A. Bystrova. Contemporary problems of science and education, 2015, № 4, Available at: <http://www.science-education.ru/127-21216> (Accessed 11.08.2015) (in Russian)

