

*А.В.Храмцов<sup>1,2</sup>, В.П.Иванов<sup>1,2</sup>, О.Н.Бачинский<sup>3</sup>*

## Белковый и липидный состав клеточных мембран эритроцитов у пациентов с профессиональным бронхитом

1 – Курский государственный медицинский университет, кафедра биологии, медицинской генетики и экологии: 305041, Курск, ул. Карла Маркса, 3;

2 – Курский государственный университет, НИЛ "Генетика": 305000, Курск, ул. Радищева, 33;

3 – Курский государственный медицинский университет, кафедра поликлинической терапии, профессиональных болезней и военно-полевой терапии: 305041, Курск, ул. Карла Маркса, 3

*A.V.Khramtsov, V.P.Ivanov, O.N.Bachinsky*

## Protein and lipid composition of cell membranes in patients with bronchitis

### Summary

We conducted a qualitative and quantitative analysis of erythrocyte cell membrane composition in patients with occupational bronchitis and in controls. Protein and lipid spectrum of erythrocyte membranes was investigated. The study involved 49 patients with occupational bronchitis and 31 healthy control persons. The study compared cell membrane proteins and phospholipids in patients suffering from bronchitis and in the control group. An excessive level of several cytoskeletal proteins and a significant deficit of fosfatidilinozitol / serin were found in patients with occupational bronchitis.

**Key words:** dust bronchitis, occupational bronchitis, membrane lipids, phospholipids, membrane proteins.

### Резюме

Проведено качественное и количественное определение состава клеточных мембран эритроцитов больных профессиональным бронхитом и контрольной группы. С помощью соответствующих методик анализировался белковый и липидный спектр мембран клеток эритроцитов. В исследовании принимали участие 49 больных профессиональным пылевым бронхитом и 31 здоровый пациент из контрольной группы. Показано, что у больных профессиональным бронхитом, в сравнении с пациентами контрольной группы, имел место избыток ряда цитоскелетных белков и значительный дефицит фосфатидилинозитола / серина.

**Ключевые слова:** пылевой бронхит, профессиональный бронхит, мембранные липиды, фосфолипиды, мембранные белки.

Проблема бронхолегочной патологии актуальна для современной медицины, т. к. хронические болезни легких занимают ведущее место среди причин заболеваемости и смертности взрослого населения.

Факторами риска хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ) считаются длительное воздействие профессиональных вредностей (пыли, химических соединений, дыма, паров, запахов, различных раздражителей) и развитие такого заболевания, как профессиональный бронхит. Среди основных факторов риска профессиональной природы наиболее вредными являются кадмий и кремний. При сочетанном воздействии курения и профессиональных вредностей патогенность указанных факторов риска значительно усиливается. Следует учитывать индивидуальные факторы риска ХОБЛ: сочетанное воздействие внешних факторов, генетическую предрасположенность, респираторные инфекции в детстве, наличие сопутствующих заболеваний, прием различных медикаментозных препаратов и др. [1].

Хронический пылевой бронхит – одна из форм первично-пылевого бронхита [2]. Это определяет некоторые клинические особенности заболевания: медленное постепенное начало, которое характеризуется непостоянным, периодически усиливающимся кашлем – как правило, сухим, иногда со скудной мокротой, при отсутствии повышения температуры тела и существенного изменения общего состояния. Диагноз хронического пылевого бронхита основывается также и на таких клинических критериях, как нали-

чие кашля и выделение мокроты не менее чем в течение 3 мес. на протяжении 2 лет при исключении других заболеваний верхних дыхательных путей и легких. При этом хронический пылевой бронхит рассматривается как периодически обостряющийся воспалительный процесс, характеризующийся поражением бронхиального дерева диффузного характера [2]. Вентиляционные нарушения при хроническом бронхите, главным образом обструктивные, проявляются экспираторной одышкой и снижением объема форсированного выдоха за 1-ю с (ОФВ<sub>1</sub>) – интегрального показателя, отражающего выраженность бронхиальной обструкции. Прогрессирование болезни как обязательный признак хронического бронхита проявляется ежегодным снижением ОФВ<sub>1</sub> на  $\geq 50$  мл [3, 4].

Важным элементом патогенеза любого мультифакториального заболевания, в т. ч. профессионального пылевого бронхита, является качественный и количественный состав клеточных мембран, через которые непрерывно движется поток различных агентов – как необходимых для клетки, так и вредных для нее. Как известно, основными компонентами клеточных мембран любой эукариотической клетки являются белки и липиды. Количественное соотношение между классами белков и липидов изменяется при некоторых заболеваниях, в связи с этим состояние клеточных мембран является актуальной проблемой при изучении хронического бронхита.

Целью исследования являлась оценка количественного и качественного состава белкового, а также

липидного спектра мембран эритроцитов у больных профессиональным бронхитом.

## Материалы и методы

Материалом для исследования послужили эритроциты 49 лиц г. Курска и Курской обл., страдающих профессиональным пылевым бронхитом, в возрасте от 40 до 67 лет. В контрольную группу вошел 31 практически здоровый человек. Среди обследованных было 38,68 % женщин и 61,32 % мужчин.

Формирование выборок осуществлялось в Курском центре профпатологии врачами основных специальностей, при этом собирался генетический анамнез на предмет наличия различных соматических заболеваний в семьях. Подбор добровольцев проводился при исключении у них любой соматопатологии.

Эритроциты получали из 5 мл гепаринизированной крови по методу *E.Beutlera* [5]. Для получения препаратов мембран эритроциты разрушали осмотическим "шоком" по методу *G.Dodge* [6]. Липидный спектр определяли методом одномерной тонкослойной хроматографии по методу *В.И.Крылова* [7]. Уровень содержания мембранных липидов определяли денситометрическим методом в отраженном свете с использованием программы *OneDscan*. При анализе определяли относительную оптическую плотность данного вещества. Для точного количественного выражения (в мг / дл) строили калибровочные графики, отражающие зависимость относительной оптической плотности от количественного содержания вещества. Белковые компоненты мембран эритроцитов определяли модифицированным одномерным градиентным электрофорезом в полиакриламидном геле по методу *U.K.Laemli* [8]. Идентификацию и подсчет белковых фракций, согласно классификации *G.Fairbanks, T.L.Steck* [9], проводили денситометрическим методом.

Статистическая обработка проводилась с помощью электронных таблиц *Excel* и программного пакета *Statistica 7.0*. Для проверки достоверности различий между совокупностями использовали параметрические критерии Стьюдента и Фишера.

## Результаты и обсуждение

Проведено изучение количественного содержания основных белковых и липидных фракций эритроцитов мембран больных профессиональным бронхитом и контрольной группы. Результаты сравнительного анализа представлены в табл. 1 и 2.

Как видно из табл. 1, были обнаружены достоверные различия между группами в количественном содержании лишь по некоторым белковым фракциям. В структуре мембран эритроцитов у больных профессиональным бронхитом, по сравнению с контрольной группой, выявлено высокое содержание белков:  $\alpha$ -спектрина, полосы 4.5, полосы 7.2.

Статистически достоверные результаты сравнительного анализа содержания основных фосфолипидов мембран эритроцитов (табл. 2) показали, что по

содержанию фосфатидилинозитола / серина и фосфатидилхолина различия между группами были наиболее выраженными. Причем отмечается явный дефицит фосфатидилинозитола / серина и сфингомиелина у больных профессиональным бронхитом по сравнению с контрольной группой. Уменьшение количественного содержания фосфолипидов, в свою очередь, вызывает существенные изменения показателей лабильности клеточных мембран, а именно: понижается латеральная диффузия компонентов мембраны, уменьшается диффузия соответствующих веществ (например, неполярных соединений) через мембрану, понижается способность мембран к разрыву. Увеличение количественного содержания фосфолипидов в мембранах приводит к обратным процессам [10].

Выявленные изменения количественных характеристик биохимического состава мембран эритроцитов у больных хроническим бронхитом профессионального генеза могут быть полезны не только для определения риска развития заболевания, но и для оценки постановки диагноза.

В процессе построения линейно-дискриминантной функции (ЛДФ) проводилась оценка прогностической ценности каждого из выделенных показателей для больных профессиональным бронхитом и контрольной группы. Рассчитанные коэффициенты ЛДФ представлены в табл. 3.

В табл. 3 обращает на себя внимание высокая прогностическая ценность отдельных показателей липидного спектра мембран эритроцитов, особенно фосфатидилхолина, лизофосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина. Многие из этих фосфолипидов коррелируют с подверженностью к профессиональному бронхиту. Полученные коэффициенты регрессионного анализа позволяют прогнозировать развитие хронического бронхита профессионально-

**Таблица 1**  
**Сравнительный анализ количественных характеристик белков мембран эритроцитов больных профессиональным бронхитом и контрольной группы**

Мембранные белки	Профессиональный бронхит (n = 49)	Контрольная группа (n = 31)	t
$\alpha$ -спектрин	105,34 ± 6,00	84,86 ± 10,70	2,1*
$\beta$ -спектрин	101,91 ± 5,70	106,48 ± 13,00	0,5
Белок 2.1 (анкирин)	33,94 ± 3,20	29,12 ± 4,90	0,8
Белок 2.2	11,02 ± 1,20	12,03 ± 2,40	0,4
Белок 2.3	9,25 ± 1,20	11,46 ± 3,10	0,8
Белок 3 (АТБ)	267,83 ± 7,60	285,96 ± 13,60	1,4
Белок 4.1	56,73 ± 3,80	45,44 ± 4,00	1,7
Белок 4.2 (паллидин)	48,60 ± 2,40	41,34 ± 4,70	1,5
Белок 4.5	36,80 ± 2,40	26,59 ± 3,40	2,4*
Белок 4.5.1	63,62 ± 3,80	52,77 ± 6,40	1,5
Белок 5 (актин)	56,94 ± 2,70	64,84 ± 5,10	1,5
Белок 6 (ГАФД)	79,06 ± 3,60	84,59 ± 6,60	0,8
Белок 7.1	46,39 ± 2,70	42,63 ± 7,00	0,6
Белок 7.2	22,08 ± 1,30	16,43 ± 3,20	2,0*
Белок 8 (GST)	74,80 ± 4,90	80,26 ± 13,30	0,5

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; АТБ – анионтранспортный белок; ГАФД – глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа; GST – глутатион-S-трансфераза.

**Таблица 2**  
**Сравнительный анализ количественных характеристик фосфолипидов мембран эритроцитов больных профессиональным бронхитом и контрольной группы**

Мембранные фосфолипиды	Профессиональный бронхит (n = 49)	Контрольная группа (n = 31)	t
Лизофосфатидилхолин	1,42 ± 0,30	1,97 ± 0,40	1,2
Сфингомиелин	1,37 ± 0,20	2,06 ± 0,30	2,0*
Фосфатидилинозитол / серин	4,14 ± 0,40	9,60 ± 0,80	6,0*
Фосфатидилхолин	3,20 ± 0,40	2,06 ± 0,40	2,0*
Кардиолипин	1,50 ± 0,30	2,41 ± 0,40	1,8
Фосфатидилэтаноламин	3,84 ± 0,60	3,47 ± 0,40	0,5

Примечание: \* –  $p < 0,05$ .

го генеза с вероятностью 90 %, что может использоваться в практике врача-клинициста.

Таким образом, у больных профессиональным бронхитом, по сравнению с группой контроля, выявлены существенные различия как в количественном содержании основных мембранных белков и липидов эритроцитов, так и в характере их взаимного варьирования в пределах изучаемых статистических совокупностей. Полученные данные позволяют полагать, что выраженные изменения количества периферических, интегральных белков и фосфолипидов в структуре мембран больных профессиональным бронхитом могут сопровождаться значительной перестройкой архитектоники цитоскелета [11] и тем самым оказывать существенное влияние на функциональные свойства эритроцитарной мембраны.

## Заключение

1. Было показано, что воздействие профессиональных вредных факторов оказывает непосредственное влияние не только на общее физиологическое состояние легких человека, но и на молекулярно-биохимический состав клеточных мембран.
2. Вариабельность количественного содержания отдельных белковых фракций в мембранах эритроцитов характеризуется статистически достоверной сопряженностью различной силы. У больных профессиональным бронхитом, в сравнении

**Таблица 3**  
**Коэффициенты регрессионного анализа прогностических ценных количественных характеристик биохимического состава мембран эритроцитов больных профессиональным бронхитом и контрольной группы**

Признак	Ценность признака	Коэффициент ЛДФ	Constanta (b <sub>0</sub> )
Фосфатидилинозитол / серин	10,09	0,030	
Фосфатидилхолин	30,64	-0,080	
Лизофосфатидилхолин	14,66	0,126	
Фосфатидилэтаноламин	12,01	-0,073	
Белок полосы 2.1	10,50	-0,009	
Белок полосы 7.2	5,80	-0,013	1,91

Примечание: ошибка классификации – 10 %.

с группой контроля, установлены выраженные изменения в количестве основных мембранных белков эритроцитов, характеризующиеся увеличением содержания  $\alpha$ -спектрина, белка полосы 4.5 и тропомиозина.

3. Увеличение и уменьшение количественного содержания фосфолипидов клеточных мембран эритроцитов также было связано с профессиональной патологией. Изменение количественного спектра фосфолипидов, в свою очередь, влияет на показатели лабильности клеточных мембран.
4. У больных профессиональным бронхитом, по сравнению с группой контроля, установлены выраженные изменения в количестве основных мембранных фосфолипидов эритроцитов, характеризующиеся повышением содержания фосфатидилхолина и снижением – сфингомиелина и фосфатидилинозитола / серина.

## Литература

1. Темкин Я.С. Профессиональные заболевания верхних дыхательных путей. СПб.: Ладога; 2002.
2. Артамонова В.Г., Мухин Н.А. Профессиональные болезни. 4-е изд. М.: Медицина; 2006.
3. Кокосов А.Н. Бронхит. Механизмы хронизации, лечение, профилактика. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2007.
4. Чучалин А.Г. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких: Пер. с англ. М.: Атмосфера; 2007.
5. Beutler E., West C., Blume R.G. Removal of leukocytes and platelets from whole blood. J. Lab. Med. 1976; 88: 328–333.
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: 119–130.
7. Количественный анализ хроматографическими методами К60: М.: Мир; 1990.
8. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970; 227: 680–684.
9. Fairbanks G., Steck T.L., Wallach D.F.H. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. Biochemistry 1971; 10: 2607–2617.
10. Мушкабаров Н.Н., Кузнецов С.Л. Молекулярная биология. М.: ООО "Медицинское информационное агентство"; 2007.
11. Иванов В.П., Полоников А.В., Солодилова М.А. Белки клеточных мембран и сосудистые дистонии у человека. Курск: КГМУ, КМИ; 2004.

## Информация об авторах

Храмцов Александр Валентинович – аспирант кафедры биологии, медицинской генетики и экологии Курского государственного медицинского университета; тел.: 8-950-871-33-07; e-mail: hramcov86@yandex.ru  
Иванов Владимир Петрович – д. м. н., проф., зав. кафедрой биологии, медицинской генетики и экологии Курского государственного медицинского университета; тел.: (4712) 58-81-47; e-mail: professor-ivp@yandex.ru

Бачинский Олег Николаевич – ассистент кафедры поликлинической терапии, профессиональных болезней и военно-полевой терапии Курского государственного медицинского университета; тел.: (4712) 6-11-09; e-mail: bonddoctor@mail.ru

Поступила 17.08.10

© Коллектив авторов, 2012

УДК 616.233-002-057-07:616.155.1-092.18