

30. Harris E.D. A Requirement for Copper in Angiogenesis. *Nutr. Rev.* 2004; 62 (2): 60—4.
31. Gupte A., Mumper R.J. Elevated copper and oxidative stress in cancer cells as a target for cancer treatment. *Cancer Treat. Rev.* 2009; 35 (1): 32—46.
32. La Mendola D., Magri A., Vagliasindi L.I., Hansson Ö., Bonomo R.P., Rizzarelli E. Copper(II) complex formation with a linear peptide encompassing the putative cell binding site of angiogenin. *Dalton Trans.* 2010; 39 (44): 10678—84.
33. Goroshinskaya I.A., Nerodo G.A., Surikova E.I., Kachesova P.S., Vnukov V.V., Shalashnaya E.V. et al. Chemiluminescence intensity, antioxidant system state and oxidative modification of proteins in blood in ovarian cancer patients with a local recurrent tumour. *Sibirskiy Onkologicheskii Zhurnal.* 2013; 4 (58): 45—9. (in Russian)

Поступила (received) 25.03.14

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2015

УДК 616.379-008.64-053.2-074

Туркина Т. И., Щербо С. Н., Ваганов П. Д., Талицкий В. В., Манджиева Э. Т.

ИНЕРТНОСТЬ ЛИМФОЦИТАРНЫХ Fc-РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ДЕЙСТВИИ ПРОСТАГЛАНДИНОВ И ИЗОПРОТЕРЕНОЛА И ИЗМЕНЕНИЯ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра клинической лабораторной диагностики факультета усовершенствования врачей
ГБОУ ВПО "РНИМУ им. Н. И. Пирогова" Минздрава России, 117997, Москва, Россия

Для корреспонденции: Туркина Татьяна Ивановна, доктор биол. наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики, e-mail: kldkaf@yandex.ru

♦ Цель работы — исследование липидного спектра лимфоцитов крови у детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом, и способности Fc-рецепторов лимфоцитов (FcR) отвечать на действие простагландинов (ПГ) и изопротеренола, обладающих модулирующими свойствами.

Обследовано 18 детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом в фазе декомпенсации, в возрасте 7—15 лет. Контрольную группу составили 12 здоровых детей того же возраста. Изучение поверхностных рецепторов к Fc-фрагментам IgG проводили с помощью реакции EA-розеткообразования. Липидный и фосфолипидный спектр лимфоцитов исследовали методом тонкослойной хроматографии липидов.

Обнаруженная "ареактивность" поверхностных FcR связана с изменением липидного состава мембран лимфоцитов. В связи с этим можно ожидать, что и другие рецепторы, фиксированные на мембране, будут слабо реагировать на действие модуляторов, аналогичных ПГ и изопротеренолу.

Ключевые слова: дети; сахарный диабет; липидный обмен; Fc-рецепторы лимфоцитов.

Для цитирования: Российский медицинский журнал. 2015; 21 (2): 33—35.

Turkina T.I., Scherbo S.N., Vaganov P.D., Talitskii V.V., Mandjiev E.T.

THE INERTNESS OF LYMPHOCITIC Fc-RECEPTORS UNDER EFFECT OF PROSTAGLANDINS AND ISOPROTERENOL AND ALTERATION OF LIPID METABOLISM IN CHILDREN WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

The N.I. Pirogov Russian national research medical university Minzdrav of Russia, 117997 Moscow, Russia

♦ The study was organized to examine lipid spectrum of blood lymphocytes in children with insulin-dependent diabetes mellitus. The capacity of Fc-receptors of lymphocytes to respond to effect of prostaglandins and isoproterenol having modulating characteristics was also examined. The sampling included 18 children with insulin-dependent diabetes mellitus in decompensation phase aged from 7 to 15 years. The control group consisted of 12 healthy children of the same age. The examination of surface receptors to Fc-fragments IgG was implemented using reaction of EA-rosetting. The lipid and phospholipid spectrum of lymphocytes were analyzed using technique of thin-layer chromatography of lipids. The established "areactivity" of surface Fc-receptors of lymphocytes is related to alteration of lipid composition of membranes of lymphocytes. In this connection, it is possible to expect that other receptors fixed on the membrane will faintly react to effect of modulators similar to prostaglandins and isoproterenol.

Keywords: children; diabetes mellitus; lipid metabolism; Fc-receptors of lymphocytes.

Citation: Rossiiskii meditsinskii zhurnal. 2015; 21 (2): 33—35.

For correspondence: Tatyana Turkina, MD, PhD, DSc; e-mail: kldkaf@yandex.ru

Нарушения обмена веществ при сахарном диабете (СД) вызывают функциональные изменения некоторых органов и тканей. Особенно тяжело переносятся больными СД иммунологическая недостаточность, клинически проявляющаяся частыми инфекционными заболеваниями с тяжелым течением [1]. Данные лабораторных исследований при этом свидетельствуют о снижении функциональной активности иммунокомпетентных клеток [1, 2]. Однако в настоящее время нет единой концепции патогенеза иммунодефицитного состояния при СД [3, 4]. Данная работа основана на предположении, что нарушения обмена углеводов при СД сопровождаются изменением липидной формулы сыворотки крови и состава мембран эритроцитов [5, 6], а аналогичные изменения липидного состава мембран, по-видимому, могут быть и в других клетках, в частности в лимфоцитах, что может приводить к нарушению их функциональной

активности [7]. Исследовали липидный состав лимфоцитов крови у детей, больных инсулинзависимым СД, у которых одновременно с этим изучали способность Fc рецепторов (FcR) лимфоцитов отвечать на действие простагландинов (ПГ) и изопротеренола, обладающих модулирующими свойствами [8, 9].

Материал и методы

В работе использовали кровь, взятую натощак у 18 детей, больных инсулинзависимым СД в фазе декомпенсации, в возрасте 7—15 лет. Контрольную группу составили 12 здоровых детей того же возраста. Изучение поверхностных рецепторов к Fc-фрагментам IgG (FcR) проводили с помощью реакции розеткообразования с эритроцитами быка (Е), нагруженными кроличьей антисывороткой (А) — реакции EA-розеткообразования (EA-РОК) [10—12]. Метод выделения лимфоцитов крови

и определения реакции FcR на ПГЕ₂ (2 нМ), ПГФ_{2α} (2 нМ) и изопротеренол (10⁻⁵, 10⁻⁶ М) с по мощью ЕА-РОК описан ранее [10]. Эффективным считается отклонение ЕА-РОК от контрольных значений, равное 7% и более (2σ).

Липидный и фосфолипидный спектр хлороформенных экстрактов лимфоцитов исследовали методом тонкослойной хроматографии с последующей регистрацией на денситометре [8]. В липидном спектре определяли следующие фракции: фосфолипиды, свободный холестерин, неэстерифицированные жирные кислоты, триглицериды, эфиры холестерина; в фосфолипидном спектре — лизофосфатидилхолин, фосфатидилхолин, сфингомиелин + фосфатидилинозит, фосфатидилэтаноламин. Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с использованием пакета статистических программ Stat Soft 60. Достоверными считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В таблице приведены данные содержания липидов и фосфолипидов в лимфоцитарных экстрактах у здоровых и больных детей СД. Выявлены существенные изменения как липидного, так и фосфолипидного спектра мембран. В составе липидов лимфоцитов у детей, больных СД, наиболее значимо повышение содержания свободного холестерина и отношения холестерин/фосфолипиды, а также снижение уровня неэстерифицированных жирных кислот; в составе фосфолипидов увеличение концентрации фосфатидилхолина и уменьшение — фосфатидилэтанолamina.

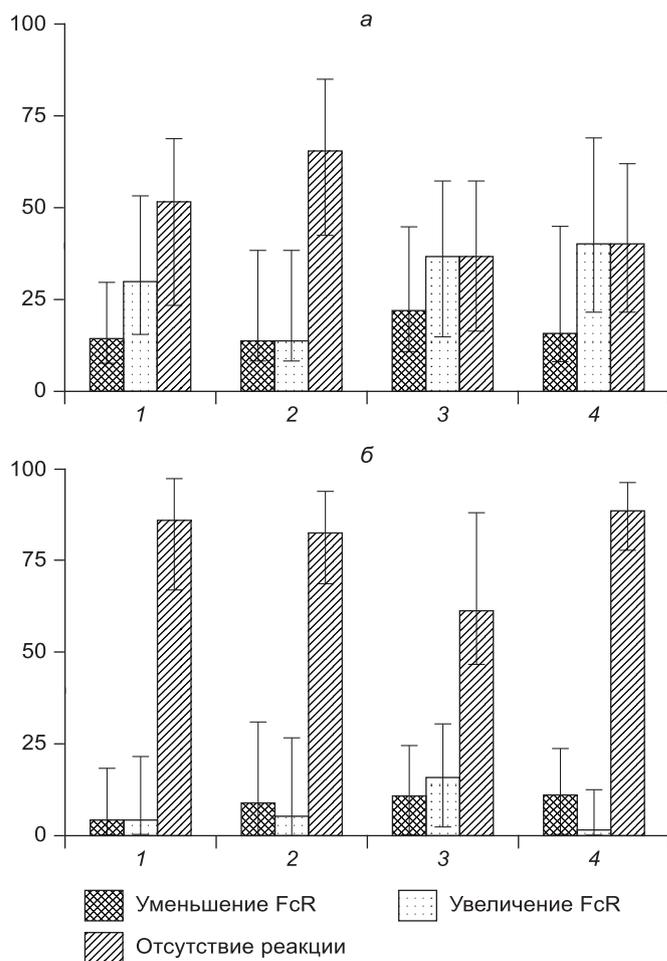
При исследовании способности FcR лимфоцитов отвечать на действие ПГЕ₂, ПГФ_{2α} и изопротеренола в группе больных СД обнаружено увеличение числа лиц, не отвечающих ни на один из использованных модуляторов. Частота выявления таких детей среди больных составляет 0,67 (12 из 18) и достоверно отличается от частоты выявления "ареактивных" лиц в группе здоровых детей — 0,18 (2 из 12).

Ранее [11] было показано, что лимфоциты здоровых детей и взрослых индивидуально реагируют на ПГЕ₂, ПГФ_{2α} и изопротеренол уменьшением или увеличением числа FcR. У детей, больных СД, также можно наблюдать разную способность лимфоцитов реагировать на модуляторы, но значительно реже у больных преобладают группы с отсутствием ответа (см. рисунок). По

Спектр липидов и фосфолипидов в экстрактах лимфоцитов у детей, больных СД

Показатель	Здоровые дети	Дети, больные СД
Липиды, %:		
фосфолипиды	36,16 ± 1,73	41,86 ± 1,50*
свободный холестерин	21,22 ± 1,78	43,77 ± 1,53*
эфиры холестерина	15,67 ± 2,41	9,51 ± 0,32*
отношение холестерин/фосфолипиды	0,83 ± 0,06	1,21 ± 0,08*
неэстерифицированные жирные кислоты	11,59 ± 0,84	1,82 ± 0,74*
триглицериды	6,59 ± 1,91	3,00 ± 1,25
Фосфолипиды, %:		
лизофосфатидилхолин	0,23 ± 0,53	1,31 ± 0,53
фосфатидилхолин	43,24 ± 1,80	50,69 ± 1,69*
фосфатидилэтаноламин	40,55 ± 2,41	27,43 ± 1,12
сфингомиелин + фосфатидилинозит	15,98 ± 1,49	20,13 ± 1,10*

Примечание. * — $p \leq 0,05$.



Распределение (в %) здоровых детей (а) и детей, больных СД (б), по типу ответа FcR лимфоцитов на действие модуляторов. 1 — ПГЕ₂ 2 · 10⁻⁹ М; 2 — ПГЕ_{2α} 2 · 10⁻⁹ М; 3 — изопротеренол 10⁻⁵ М; 4 — изопротеренол 10⁻⁶ М.

разным стимулам диапазон частоты выявления не отвечающих лиц при СД составляет 0,62—0,89, у здоровых — 0,38—0,69.

Таким образом, у больных в фазе декомпенсации инсулинзависимого СД нами выявлены, с одной стороны, изменение липидного состава мембраны лимфоцитов, с другой — инертность FcR лимфоцитов при действии модуляторов. Из этого следует, что такие изменения состава мембраны могут составлять молекулярный базис функциональной недостаточности иммунокомпетентных клеток и, в частности, нарушения регуляции экспрессии рецепторов.

Выявленное увеличение отношения холестерин/фосфолипиды у детей, больных СД, вызвано в основном повышением концентрации свободного холестерина, которое, по-видимому, обусловлено снижением активности лецитин-холестерин-ацилтрансферазы, осуществляющей эстерификацию холестерина (у больных содержание эфиров холестерина в лимфоцитарных экстрактах снижено). Увеличение отношения холестерин/фосфолипиды в мембранах в первую очередь должно влиять на функции, связанные с движением. Это может быть и уменьшение подвижности рецепторов, обуславливающее их "ареактивное" состояние, которое мы описали, и снижение фагоцитарной активности, хемотаксиса и т. п., ранее описанное при СД [1].

Другим важным фактором декомпенсации лимфоцитов у больных СД является обеднение пула неэстерифицированных жирных кислот, в состав которого входит арахидоновая кислота — основной источник ПГ и

лейкотриенов. Иммуномодулирующие свойства этих метаболитов хорошо известны, определена также роль ПГ в кооперативных межклеточных взаимодействиях как фактора, осуществляющего контроль активности иммунокомпетентных клеток по принципу отрицательной обратной связи [7]. Возможная недостаточность ПГ при СД благоприятствует развитию аутоиммунной агрессии — основного патогенетического звена заболевания. Кроме того, эндогенные ПГ могут участвовать во внутриклеточных событиях при передаче инициирующего сигнала с мембраны внутрь клетки и быть вовлечены как "вторичные посредники" в реализацию действия большинства гормонов [12]. Практически полное отсутствие неэстерифицированных жирных кислот и, вероятно, ослабленный синтез ПГ у больных СД объясняют отсутствие реакции FcR при действии изопротеренола и экзогенных ПГ. Подобный эффект у здоровых детей вызывает индометацин, блокируя синтез эндогенных ПГ и отменяя тем самым модулирующий эффект изопротеренола.

В фосфолипидном спектре лимфоцитарных экстрактов обнаружено выраженное изменение соотношения фракций фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, которое в норме приближается к 1:1, а при сахарном диабете равно 2:1. Уменьшение относительного содержания фосфатидилэтаноламина и повышение уровня фосфатидилхолина в мембранах лимфоцитов могут быть связаны с изменением активности метилтрансфераз, осуществляющих переход фосфатидилэтаноламина в фосфатидилхолин [13], а также уменьшением в сыворотке крови количества α -липопротеидов [5], которые являются основной формой транспорта фосфатидилэтаноламина [14]. Показано [15], что интерферон, активируя лимфоциты человека, повышает содержание ненасыщенных жирных кислот во фракции фосфатидилэтаноламина, не изменяя при этом другие фракции фосфолипидов. Снижение уровня фосфатидилэтаноламина в мембране может вызывать снижение чувствительности иммунокомпетентных клеток к интерферону, стимулирующему многие функции, и способствовать развитию недостаточности иммунитета при СД.

В заключение следует отметить, что использованная в работе реакция ЕА-РОС выявляет несколько популяций лимфоцитов, несущих FcR, в том числе субпопуляцию Т-супрессоров, и клеток, выполняющих антителозависимый лизис. У больных СД уменьшено количество Т-супрессоров, нарушена их функциональная активность, а также снижена активность клеток антителозависимого лизиса. Все это может быть объяснено инертностью FcR лимфоцитов, обнаруженной нами в эксперименте. "Ареактивность" поверхностных FcR мы связываем с изменением липидного состава мембран лимфоцитов. В связи с этим можно ожидать, что и другие рецепторы, фиксированные на мембране, будут слабо реагировать на действие модуляторов, аналогичных ПГ и изопротеренолу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Байбурина Г. Г. Иммунологические аспекты сахарного диабета у детей. *Российский иммунологический журнал*. 2011; 5(14): 3—4.
2. Gupta S., Fikring S. M., Khanna S., Orti E. Deficiency of suppressor T-cell in insulin-dependent diabetes mellitus. *Immunol. Lett.* 1982; 4: 289—94.
3. Davidson N. J., Sowden J. M., Fletcher J. Defective phagocytosis in insulin controlled diabetics: evidence for a reaction between glucose and opsonising proteins. *J. Clin. Pathol.* 1984; 37: 783—6.
4. Selam J. L., Clot J., Andary M., Mirouze J. Circulating lymphocyte subpopulation juvenile insulin — dependent diabetes. *Diabetologia*. 1979; 16: 35—40.
5. Туркина Т. И., Марченко Л. Ф., Сапелькина Л. В. Показатели спектра липидов сыворотки крови и мембран эритроцитов при сахарном диабете у детей. *Проблемы эндокринологии*. 1986; 5: 32—6.

6. Щербакова М. Ю., Лебедева С. Е., Туркина Т. И., Сеницын П. А., Рошупкин А. Н. *Метаболический синдром у детей и подростков*. Оренбург: 2011.
7. Schmidt B., Flesch I., Ecker B. Membrane phospholipid changes during macrophage activation. *Agents Actions*. 1984; 15: 21—7.
8. Шталь Э., ред. *Хроматография в тонких слоях: Перевод с немецкого*. М.: 1965.
9. Izvekova V. A., Cheredeev A. N., Konstantinov A. A. Production of prostaglandins by human monocytes and its effects on Fc-receptors of human lymphocytes. *International Congress of Immunology, 6-th*. Toronto; 1986.
10. Morelia L., Webb S. R., Grossi G. E. Functional analysis of two T-cell subpopulation: help and suppression of 134 B cell responses Tcell bearing receptors for IgM and IgG. *J. Exp. Med.* 1977; 146: 184—200.
11. Череев А. Н., Извекова В. А. *Эффекты простагландинов E₂, F_{2a} и изопротеренола на Fc-рецепторы лимфоцитов и нейтрофилов. Актуальные вопросы иммунологии и иммунопатологии*. Ростов н/Д.; 1985.
12. Pawlikowski M. Are prostaglandins involved in the mitogenic action of hormones? *J. Clin. Endocrinol.* 1983; 3: 233—8.
13. Hirata F., Axelrod J., Crews F. T. Concanavalin A Stimulates phospholipid methylation and phosphatidylserine decarboxylation in rat mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979; 76: 4813.
14. Туркина Т. И., Щербо С. Н. Клиническое значение исследования содержания холестерина в липопротеидах высокой плотности. *Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского*. 2013; 6: 160—2.
15. Boughoux P., Salem N., Leons C., Hoffman T. Alteration in the membrane fatty acid composition of human lymphocytes and cultured transformed cells induced by interferon. *Molec. Immunol.* 1985; 22: 1107—13.

REFERENCES

1. Bayburina G. G. Immunological aspect diabetes mellitus. *Rossiyskiy immunologicheskij zhurnal*. 2011; 5(14): 3—4. (in Russian)
2. Gupta S., Fikring S. M., Khanna S., Orti E. Deficiency of suppressor T-cell in insulin-dependent diabetes mellitus. *Immunol. Lett.* 1982; 4: 289—94.
3. Davidson N. J., Sowden J. M., Fletcher J. Defective phagocytosis in insulin controlled diabetics: evidence for a reaction between glucose and opsonising proteins. *J. Clin. Pathol.* 1984; 37: 783—6.
4. Selam J. L., Clot J., Andary M., Mirouze J. Circulating lymphocyte subpopulation juvenile insulin — dependent diabetes. *Diabetologia*. 1979; 16: 35—40.
5. Turkina T. I., Marchenko L. F., Sapelkina L. V. Lipid composition membrane eritrocite in children with type 1 diabetis mellitus. *Problemy Endokrinologii*. 1986; 5: 32—6. (in Russian)
6. Shcherbakova M. Yu., Lebed'kova S. E., Turkina T. I., Sinitsyn P. A., Roshchupcin A. N. *Metabolic Syndrome in Children [Metabolicheskij Sindrom u Detey i Podrostkov]*. Orenburg: 2011. (in Russian)
7. Schmidt B., Flesch I., Ecker B. Membrane phospholipid changes during macrophage activation. *Agents Actions*. 1984; 15: 21—7.
8. Shtol' E., ed. *Chromatography in thin layer: [Chromatografiya v Tonkikh sloyakh: Perevod s menetskogo]*. Moscow: 1965. (in Russian)
9. Izvekova V. A., Cheredeev A. N., Konstantinov A. A. Production of prostaglandins by human monocytes and its effects on Fc-receptors of human lymphocytes. *International Congress of Immunology, 6-th*. Toronto; 1986.
10. Morelia L., Webb S. R., Grossi G. E. Functional analysis of two T-cell subpopulation: help and suppression of 134 B cell responses Tcell bearing receptors for IgM and IgG. *J. Exp. Med.* 1977; 146: 184—200.
11. Cheredeev A. N., Izvekova V. A. *Effekt Prostaglandins and Isoprotenerenol on Lymphocytes Fc-receptors and Neitrofile. Action Question Immunologi and Immunopatologie [Effekt Prostaglandinov E₂, F_{2a} i Izoprotenerenola na Fc-retseptory Limfotsitov i Neytrofilov. Aktual'nye Voprosy Immunologii i Immunopatologii]*. Rostov-na-Donu; 1985. (in Russian)
12. Pawlikowski M. Are prostaglandins involved in the mitogenic action of hormones? *J. Clin. Endocrinol.* 1983; 3: 233—8.
13. Hirata F., Axelrod J., Crews F. T. Concanavalin A Stimulates phospholipid methylation and phosphatidylserine decarboxylation in rat mast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979; 76: 4813.
14. Turkina T. I., Shcherbo S. N. Clinical investigation cholesterol in lipoproteide hight dense. *Pediatrya. Zhurnal im. G. N. Speranskogo*. 2013; 6: 160—2. (in Russian)
15. Boughoux P., Salem N., Leons C., Hoffman T. Alteration in the membrane fatty acid composition of human lymphocytes and cultured transformed cells induced by interferon. *Molec. Immunol.* 1985; 22: 1107—13.

Поступила (received) 16.09.14