

На правах рукописи

КУБЛИНСКАЯ
Марианна Михайловна

**ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ МЕМБРАНЫ ЭРИТРОЦИТОВ
ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ СТАРЕНИИ
И БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА**

14.00.16 – патологическая физиология

03.00.13 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск - 2002

Работа выполнена в Сибирском государственном медицинском университете

Научные руководители:

доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН,
профессор, Заслуженный деятель науки РФ

Новицкий В.В.

доктор медицинских наук

Рязанцева Н.В.

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Агафонов В.И.

доктор медицинских наук, профессор

Баскаков М.Б.

Ведущая организация:

Новосибирская государственная медицинская академия Минздрава РФ

Защита состоится « ____ » _____ 2002 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 Сибирского государственного медицинского университета (634050, Россия, Томск, ул. Московский тракт, 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, Россия, Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан « ____ » _____ 2002 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Бражникова Н.А.

Актуальность проблемы. Проблема понимания механизмов процесса старения является в последнее время одной из ведущих в биологии и медицине. Исследования структурных проявлений старения и обоснованная, убедительно аргументированная прогностическая оценка выявленных изменений связаны со значительными трудностями и требуют особых методических подходов. Это обусловлено прежде всего сложностью, многоплановостью и «внутренней» противоречивостью изучаемого явления, включающего в себя развитие разнонаправленных и противоположающихся процессов: разрушительного (деструкция) и защитно-восстановительного (адаптация). От того, какой из этих процессов преобладает в тех или иных компартментах клетки, а также в межклеточных и межтканевых взаимодействиях зависят функциональные возможности клеток, тканей, органов и, в конечном итоге, жизнеспособность организма [Ступина А.С. и соавт., 1993; Rubenstein E., 1998; Siclair D.A., 1999].

Известно, что старение может быть фактором, способствующим клинической манифестации болезни, но не являющимся ее единственной причиной. Так, например, запуск многих генетически детерминированных процессов происходит только в пожилом и старческом возрасте. Именно к таким заболеваниям относится болезнь Альцгеймера, манифестирующая себя, как правило, в старческом возрасте [Finkel E., 1998; Rubenstein E., 1998; Meissner C. et al., 2001]. Примечательно, что многие морфологические и биохимические признаки изменений клеточных систем, характерные для болезни Альцгеймера, выявляются у людей пожилого и старческого возраста. В связи с этим поиск основных механизмов развития этой патологии позволит ближе подойти к решению весьма важной микробиологической проблемы - пониманию механизмов физиологического старения организма.

В последние годы изучение патогенеза деменции альцгеймеровского типа было в основном сосредоточено на исследовании структурных и функциональных особенностей головного мозга. Показано, что основной патологический процесс локализован в нервной ткани: обнаружены внутринеурональные отложения фибрилл, так называемые нейро-фибрилярные клубки, сенильные бляшки и амилоидоз сосудов головного мозга [Дамулин И.В., 1998; Кудинова Н.В. и соавт., 1999; Гаврилова С.И., 2001; Arai Y. et al., 2001]. Однако в литературе имеются указания на структурно-функциональные изменения иммунной системы, клеток крови и печени при болезни Альцгеймера [Kay M.M., 1991; Аксенова М.В. и соавт., 1993; Kay M.M. et al., 1994; Bosman G.J. et al., 1997; Kay M.M., Goodman J., 1997; Rogiers V. et al, 1997].

Учитывая тот факт, что при болезни Альцгеймера поражаются не только клетки головного мозга, но и другие клеточные системы организма, выявление экстрацеребральных изменений при данной патологии занимает одно из ведущих положений в спектре изучаемых проблем при деменции альцгеймеровского типа. В указанном аспекте вполне закономерен интерес к изучению особенностей структурно-функциональной организации эритроцитов периферической крови - высокочувствительной тест-системы внутренней среды организма - при физиологическом старении и деменции альцгеймеровского типа.

Цель и задачи исследования. Цель работы - выявить особенности липидного и белкового составов мембраны эритроцитов у лиц пожилого возраста и пациентов с болезнью Альцгеймера.

Предпринятое исследование было сосредоточено на решении следующих основных задач:

1. Дать комплексную характеристику липидного и белкового спектров мембраны эритроцитов у здоровых доноров пожилого возраста.
2. Выявить особенности липидного и белкового составов мембраны красных кровяных клеток у больных деменцией альцгеймеровского типа; сравнить полученные результаты с данными обследования пациентов с сосудистой деменцией атеросклеротического генеза.
3. Установить общие закономерности и особенности структурной дезорганизации эритроцитарной мембраны при физиологическом старении и болезни Альцгеймера.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Физиологическое старение и болезнь Альцгеймера сопровождаются изменениями структурных характеристик эритроцитарной мембраны.

2. Изменения липидного состава мембраны эритроцитов у пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера, носят практически однонаправленный характер с таковыми в эритроцитарной мембране у здоровых лиц пожилого и старческого возраста; при этом нарушения полипептидной композиции имеют различный характер и более высокую степень выраженности при деменции альцгеймеровского типа.

Научная новизна и теоретическая значимость работы. Впервые проведено комплексное исследование липидного и белкового составов мембраны эритроцитов при физиологическом старении и болезни Альцгеймера с целью выявления общих закономерностей и особенностей дезорганизации плазматических мембран при старении и деменции альцгеймеровского типа. Показано, что физиологическое старение сопровождается дезорганизацией липидного (увеличение доли холестерина, эфиров холестерина, лизофосфолипидов, фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, а также фосфоинозитолов на фоне уменьшения содержания сфингомиелина и фосфатидилсерина) и белкового (возрастание содержания белков полос 3 и 4.5) спектров эритроцитарной мембраны. При деменции альцгеймеровского типа характер нарушений липидного компартмента мембраны клеток красной крови был аналогичен изменениям состава липидов эритроцитарной мембраны при старении. Нарушения белкового спектра мембраны красных кровяных клеток при болезни Альцгеймера характеризуются снижением содержания высокомолекулярного белка анкирина и увеличением доли пептидов полос 3, 4.1 и 5. Наруше-

ния структурного статуса мембраны эритроцитов при сосудистой деменции атеросклеротического генеза носят иной характер (изменения липидного спектра характеризуются увеличением доли сфингомиелина и фосфатидилсерина, снижением уровня фосфатидилэтаноламина, белкового состава - снижением доли высокомолекулярного протеина анкирина (белки полос 2.2, 2.3), а также белка полосы 3 при увеличении процентного содержания низкомолекулярных белков полос 4.9, 6 и 7), чем при деменции альцгеймеровского типа. В целом полученные закономерности указывают на наличие экстрацеребральных нарушений клеточных систем при деменции альцгеймеровского типа и могут способствовать вскрытию патогенеза этого заболевания.

Реализация и апробация диссертации. Результаты исследований используются в курсе лекций по патологической физиологии (раздел «Патология клетки» и «Старение организма»), нормальной физиологии (раздел «Биологические основы онтогенеза») и психиатрии (раздел «Этиология, патогенез и клинические особенности болезни Альцгеймера») на лечебном и педиатрическом факультетах Сибирского государственного медицинского университета.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 1-й Всероссийской конференции «Актуальные проблемы эволюционной и популяционной физиологии человека (Тюмень, 2001), Всероссийской конференции «Физиология организмов в нормальном и экстремальных состояниях» (Томск, 2001), II Российской конференции молодых ученых России с международным участием (Москва, 2001), конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2002), четвертом конгрессе с международным участием «Паллиативная медицина и реабилитация в здравоохранении» (Средиземноморье, 2002), научно-практической конференции «Современные аспекты биологии и медицины» (Томск, 2002), а также Всероссийской научной конференции «Биохимия – медицине» (Санкт-Петербург, 2002).

Публикации. Результаты исследований отражены в 10 публикациях (в том числе в трех статьях, размещенных в центральных рецензируемых журналах).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 148 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 11 рисунками и 28 таблицами. Библиографический указатель включает 297 источников (209 - отечественных и 88 – иностранных).

Автор выражает искреннюю признательность главному врачу Томской областной психиатрической больницы Заслуженному врачу РФ, д.м.н. А.П. Агаркову и заведующему ЦНИЛ СГМУ д.м.н., профессору А.Н. Байкову за оказанное содействие в проведении исследований.

КЛИНИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу работы положены результаты комплексного клинико-лабораторного исследования 42 больных с деменциями старческого возраста, проводившегося на базе стационарных и диспансерного отделений Томской областной клинической психиатрической больницы, а также 20 психически здоровых доноров пожилого возраста и 45 здоровых доноров молодого и среднего возраста.

Средний возраст больных с деменцией альцгеймеровского типа составил 67 ± 2 лет (от 57 до 85 лет), пациентов с сосудистой деменцией - 72 ± 4 года (от 54 до 80 лет), доноров пожилого возраста - 64 ± 2 года (от 58 до 70 лет), здоровых молодых доноров - 35 ± 2 лет (от 18 до 45 лет).

Изучение структурных особенностей мембраны эритроцитов осуществлялось у 14 пациентов с болезнью Альцгеймера (6 мужчин и 8 женщин) и 28 больных с сосудистой деменцией (8 мужчин и 20 женщин). Клиническая верификация диагноза проводилась в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10). Среди пациентов, страдающих деменцией альцгеймеровского типа, у 8 определялась деменция при болезни Альцгеймера с ранним началом - в возрасте до 65 лет (F00.0 по МКБ-10), у 6 - болезнь Альцгеймера с поздним началом - после 65 лет (F00.1 по МКБ-10). Комплексному исследованию структурного состава клеток красной крови предшествовало изучение данных анамнеза, клинико-катамнестический анализ каждого случая, а также оценка психического и соматического статуса пациентов.

Дифференциальная диагностика деменции альцгеймеровского типа и сосудистой деменции проводилась на основании признаков, отраженных в таблице 1.

Другую группу обследованных лиц составили 20 психически здоровых доноров пожилого возраста (7 мужчин и 13 женщин в возрасте от 58 до 70 лет), не предъявлявших на момент обследования жалоб соматического профиля. В состав этой группы были включены пенсионеры, согласившиеся добровольно участвовать в обследовании. Контрольную группу составили 45 практически здоровых доноров молодого и среднего возраста (мужчины в возрасте от 18 до 45 лет), выполняющих полный объем профессиональных обязанностей и ведущих привычный образ жизни. В ее состав были включены студенты, а также первичные и штатные доноры крови Томской областной станции переливания крови.

Материалом исследования являлась венозная кровь, взятая утром до приема пищи. У всех обследованных проводилось изучение структурных свойств эритроцитов, включавшее изучение особенностей липидного и белкового составов мембраны красных кровяных клеток, оценка активности фосфолипаз A₂ и D (рис. 1).

Дифференциальная диагностика болезни Альцгеймера и сосудистой деменции (по данным G.J. Vosman, 1997; А.Ф. Изнак и соавт., 1999; А.С. Тигановой, 1999)

Признак	Болезнь Альцгеймера с ранним началом	Болезнь Альцгеймера с поздним началом	Сосудистая деменция
Возраст к началу заболевания	До 65 лет	После 65 лет, но чаще после 75 лет	От возраста не зависит
Характер начала заболевания	На фоне полного или относительного здоровья	На фоне полного или относительного здоровья	Острое начало после серии цереброваскулярных эпизодов, реже одного, на фоне наличия определенной сопутствующей патологии (гипертоническая болезнь, атеросклероз, цереброваскулярная болезнь)
Наследственность	Возможно наличие в семье больных болезнью Альцгеймера	Возможно наличие в семье больных болезнью Альцгеймера	Наследственность не отягощена
Течение	Быстро прогрессирующее	Медленное прогрессирование	Ступенчатое ухудшение
Преобладающие клинические симптомы	Выраженные расстройства высших корковых функций (речи, праксиса, счета), неразрывно связанные с развитием слабоумия	Распад памяти как основная черта болезни	Потеря памяти, снижение интеллекта и очаговые неврологические знаки
Неврологические симптомы	Проявляются уже на более ранних этапах. Представлены повышением мышечного тонуса, паркинсоноподобными расстройствами, изолированными расстройствами походки, гиперкинезами	Проявляются уже на более ранних этапах. Представлены подкорковыми нарушениями в виде тремора и изменения походки (семенящая и шаркающая)	Возникают на любой стадии заболевания. Характерны неконтролируемость тазовых функций, паркинсонические расстройства, эпилептические припадки, повтор спонтанных падений
Данные компьютерно-томографического исследования	Атрофия вещества головного мозга в проекции височных, лобных и теменных долей, а также достоверное увеличение линейных размеров желудочков	Атрофия вещества головного мозга в перивентрикулярной зоне и области семиовальных центров	Единичные или множественные инфаркты в коре больших полушарий или подкорковой области; атрофия белого вещества головного мозга выражена в меньшей степени



Рис. 1. Методология исследования

Мембраны эритроцитов выделяли по методу J.T. Dodge [1963], основанном на феномене гипоосмотического гемолиза клеток.

Липиды мембраны эритроцитов экстрагировали хлороформ-метаноловой смесью по методу J. Folch et al. [1957]. Общее содержание липидов в мембране эритроцитов определяли по методу А.А. Покровского [1969], общее содержание фосфолипидов проводилось по методу В.Г. Колб, В.С. Камышникова [1982]. Препаративное разделение липидов проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинах “SORBFIL” (Россия). Для изучения фракций фосфолипидов хроматографическую камеру заливали смесью хлороформ : метанол : ледяная уксусная кислота : вода (60:25:1:3), для идентификации фракций нейтральных липидов – смесью гексан : диэтиловый эфир : метанол : ледяная уксусная кислота (90:20:3:2), для выявления фракций фосфоинозитолов - смесью метанол : хлороформ : аммиак : вода (48:40:5:10) [Финдлей Дж.Б., Эванс У., 1990]. Количественную оценку хроматограмм проводили с помощью компьютерной программы [Рязанцева Н.В., 2001].

Определение активности фосфолипаз A_2 и D проводили по методам Дж.Б. Финдлея, У. Эванса [1990].

Белковый спектр мембраны эритроцитов изучали методом электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии 0,1% додецил-сульфата натрия [Laemmli U.K., 1970].

Статистический анализ данных проводили с помощью нижеприведенных методов. В процессе анализа вычисляли средние арифметические для отдельных групп и среднеквадратические (стандартные) ошибки среднего. Проверку нормальности распределения вероятности количественных признаков производили с помощью критерия Колмогорова и критерия Шапиро-Уилки [Бикел П., Доксам К., 1983; Ллойд Э, Ледерман У., 1989].

Поскольку часть признаков в отдельных группах сравнения не отвечала нормальному распределению, то помимо параметрического метода сравнения групп (t-критерий Стьюдента) применяли также непараметрические критерии. Для этого были использованы следующие методы биометрики: сравнение групповых средних с помощью параметрического дисперсионного анализа (ANOVA) и непараметрического дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса с ранговыми метками Вилкоксона, а также с помощью критерия Ван-дер-Вардена [Болч Б., Хуань К.Дж., 1979; Афифи А., Эйзен С., 1982; Поллард Дж., 1982]. Сравнение многомерных группировок производили с помощью дискриминантного анализа [Кендалл М., Стьюарт А., 1973; Леонов В.П., 1990].

Дискриминантный анализ выполняли с использованием алгоритма пошагового отбора информативных признаков. Статистическую значимость полученных дискриминантных функций оценивали с помощью λ -критерия Уилкса. Качество дискриминации проверяли по таблице переклассификации, в которой отображались результаты классификации отдельных наблюдений в сравниваемые группы на основе полученных дискриминантных функций. В случае сравнения многомерных групп графически изображали распределение наблюдений этих групп в канонических осях.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Возникновение болезни Альцгеймера в пожилом и старческом возрасте, тяжесть течения, неблагоприятный исход заболевания с полной инвалидизацией больного, сложная цепь механизмов, лежащих в основе развития деменции, приводят к необходимости расширения фундаментальных исследований в этой области знаний. Небезынтересно отметить, что поиск специфических факторов, определяющих возникновение и развитие заболевания, позволил выдвинуть множество гипотез патогенеза деменции альцгеймеровского типа [Брацун А.Л., 1998; Дамулин И.В., 1998, 1999; Пономарева Н.В. и соавт., 1999; Садовник А.Д., 2000; Суханов А.В. и соавт., 2001]. Однако конкретные механизмы развития этой патологии

остаются неизвестными, что создает трудности для поиска необходимых методов профилактики и лечения болезни Альцгеймера.

В настоящее время известно, что некоторые структурно-метаболические нарушения клеточных систем, характерные для болезни Альцгеймера, встречаются и при физиологическом старении. В связи с этим, получение новых знаний о патогенезе деменции альцгеймеровского типа позволяет подойти к решению весьма сложной проблемы - пониманию механизмов нормального старения организма.

Учитывая тот факт, что в основе большинства известных заболеваний лежат процессы, связанные с поражением клеточных мембран, выяснение механизмов мембранной дезорганизации при деменции альцгеймеровского типа положено в основу многих исследований. По данным литературы, при болезни Альцгеймера обнаружены отчетливые изменения цитоскелета нейрональной мембраны, целостность которого является критерием выживания и функционирования клеток головного мозга. В мембране нервных клеток отмечалось повышение доли белка полосы 4.1 и деградация полипептида полосы 3 [Кай М.М., 1991; Sihag R.K. et al., 1994; Vosman G.J. et al., 1997; Кай М.М., Goodman J., 1997]. Постмортальный анализ липидного компонента мембраны нейроцитов больных позволил выявить снижение содержания общих фосфолипидов, уменьшение процентного содержания фракций фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина [Ripova D. et al., 1998; Кудинова Н.В. и соавт., 1999; Kawahara M., Kuroda Y., 2001].

При физиологическом старении также выявлена дезорганизация белкового и липидного составов нейрональной мембраны [Богацкая Л.Н., 1990]. Так, в мембране клеток центральной нервной системы обнаружены увеличение содержания холестерина, сфингомиелина, повышение степени насыщенности жирных кислот, а также возрастание микровязкости липидной фазы [Shinitzky M., 1987; Youssef J., Badr M., 1999].

Примечательно, что при болезни Альцгеймера поражаются не только нейроны, но и другие клеточные системы организма. Выявление экстрацеребральных изменений при данной патологии занимает одно из лидирующих положений в спектре биологических проблем, изучаемых при деменции альцгеймеровского типа. С этих позиций весьма актуально, на наш взгляд, исследование структурно-метаболического статуса эритроцитарной мембраны, способной чутко реагировать на какие-либо изменения гомеостаза [Заводник И.Б. и соавт., 1995; Новгородцева Т.П. и соавт., 2002]. Учитывая тот факт, что немаловажную роль в обеспечении основных структурно-функциональных свойств клеток красной крови играют липиды и протеины их мембраны, настоящее исследование было направлено на изучение особенностей липидного и белкового спектров мембраны эритроцитов периферической крови при физиологическом старении и болезни Альцгеймера.

Известно, что эритроцитарной мембране принадлежит ключевая роль в детерминации нормального функционирования клетки в целом [Болдырев А.А.,

1986; Казеннов А.М., Маслова М.Н., 1991; Capra P. et al., 1999; Janouye M. et al., 1999]. Согласованная работа мембранных механизмов клетки в значительной мере определяет ее способность поддерживать клеточный гомеостаз и тонко реагировать как на воздействия факторов внешней среды, так и на изменения внутренней среды организма [Сим Э., 1985; Болдырев А.А., 1987; Владимиров Ю.А., 1989, 1998; Мальцева Е.Л. и соавт., 1995; Prasad G.V. et al., 1998]. Эритроцитарная мембрана обеспечивает структурную и функциональную целостность клетки [Зуева О.М. и соавт., 1989; Осколков С.А., 1994; Auland M.E. et al., 1995; Capra P. et al., 1999; Janouye M. et al., 1999], изменения которой при различных патологических процессах играют решающую роль в функционировании клеток, распознавании и селективном удалении неполноценных эритроцитов [Сторожок С.А., Соловьев С.В., 1996].

К настоящему времени накоплены фактические данные, указывающие на изменения липидной компоненты мембраны клеток красной крови при физиологическом старении. В частности, процесс старения сопровождается уменьшением содержания в эритроцитарной мембране общих липидов, фракций фосфолипидов, фосфатидилхолина и фосфатидилэтаноламина, а также увеличением уровня сфингомиелина [Величко Л.Н., Федорова В.М., 1981; Новгородцева Т.П. и соавт., 2002].

В результате исследований, выполненных в нашей лаборатории, были получены результаты, подтверждающие наличие выраженной дезорганизации липидного спектра мембраны эритроцитов у здоровых доноров пожилого возраста. Так, в мембране клеток красной крови при нормальном старении было выявлено отчетливое увеличение количественного содержания общих липидов по сравнению с аналогичным параметром у лиц молодого и среднего возраста. При проведении хроматографического исследования обращало на себя внимание статистически значимое, по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых добровольцев, увеличение среднего содержания фракций холестерина и его эфиров в мембране эритроцитов при снижении доли общих фосфолипидов, и, как следствие, - возрастание средних значений величины соотношения холестерин/фосфолипиды, что согласуется с данными литературы [Величко Л.Н., Федорова В.М., 1981; Новгородцева Т.П. и соавт., 2002]. При изучении фракционного состава фосфолипидов в мембране клеток красной крови обращало на себя внимание статистически значимое ($p < 0,001$) увеличение фракций лизофосфатидилхолина, фосфатидилхолина, фосфоинозитолов и фосфатидилэтаноламина, тогда как доля сфингомиелина и фосфатидилсерина, напротив, была снижена по сравнению с уровнем этих фосфолипидов в эритроцитарной мембране у здоровых доноров молодого и среднего возраста.

Указанная дестабилизация липидного бислоя мембраны при физиологическом старении может быть следствием активации фосфолипаз, приводящая к повышению концентрации свободных жирных кислот, лизофосфолипидов и диа-

цилглицеридов [Ли В.С. и соавт., 1982; Ольшанский А.Я. и соавт., 1984; Болдырев А.А., 1986; Горбунов Н.В., 1993]. Проведенное нами исследование подтвердило факт значительного возрастания ($p < 0,001$) активности фосфолипаз A₂ и D в мембране эритроцитов у лиц пожилого возраста по сравнению с активностью этих энзимов у здоровых доноров молодого и среднего возраста.

Вторым важным механизмом модификации липидов клеточной мембраны принято считать усиление процессов перекисного окисления липидов [Кожевников Ю.Н., 1985; Владимиров Ю.А., 1989]. Известно, что фосфолипиды, образующие бислойную липидную мембрану, восприимчивы к повреждающему действию кислородных радикалов вследствие их высокой ненасыщенности. Изменения фосфолипидного состава в результате интенсификации процессов ПОЛ приводят к изменению липид-липидных и белок-липидных взаимодействий [Древаль В.И., 1991; Егоров К.Е., 1996; Геннис Р., 1997; Hollan S. et al., 1998; Woon L.A. et al., 1999]. Примечательно, что при физиологическом старении выявлена интенсификация свободно-радикального окисления в клетках красной крови и печени [Богацкая Л.Н. и соавт., 1990].

Хотя основные структурные особенности клеточной мембраны определяются свойствами липидного бислоя, большинство их специфических функций осуществляется белками [Альбертс Б. и соавт., 1986]. При исследовании белкового компартмента эритроцитарной мембраны у доноров пожилого возраста нами было обнаружено увеличение процентного содержания белка полосы 3 и низкомолекулярного протеина полосы 4.5 (рис. 2).

Белок полосы 3 является основным структурным белком и входит в состав плазматических мембран разнообразных клеток, а также ядерной мембраны, мембраны митохондрий и аппарата Гольджи, где выполняет функцию анионного переносчика [Кау М.М. et al., 1994]. Учитывая важную роль белка полосы 3 в поддержании структурной целостности клетки, ее кислотно-щелочного равновесия, а также взаимодействие указанного белка с анкирином, изменения содержания этого пептида могут вызывать нарушения структуры мембраны клетки и, как следствие, ее дисфункцию [Черницкий Е.А., Воробей А.В., 1981; Кау М.М., 1991]. Этот важный анионный переносчик весьма чувствителен к действию продуктов окислительного напряжения, что в конечном итоге ограничивает срок службы протеина, а вследствие этого - и самой клетки [Кау М.М., Goodman J., 1998]. Изменение содержания протеина полосы 3 приводит к нарушению белок-липидных взаимодействий, так как мембранный скелет эритроцитов связан с фосфолипидным матриксом именно через этот белок.

Приведенные нами результаты исследования структурного статуса мембраны эритроцитов вполне согласуются с данными, полученными в других лабораториях. В настоящее время накоплены знания об изменениях структурного статуса мембраны эритроцитов при физиологическом старении.

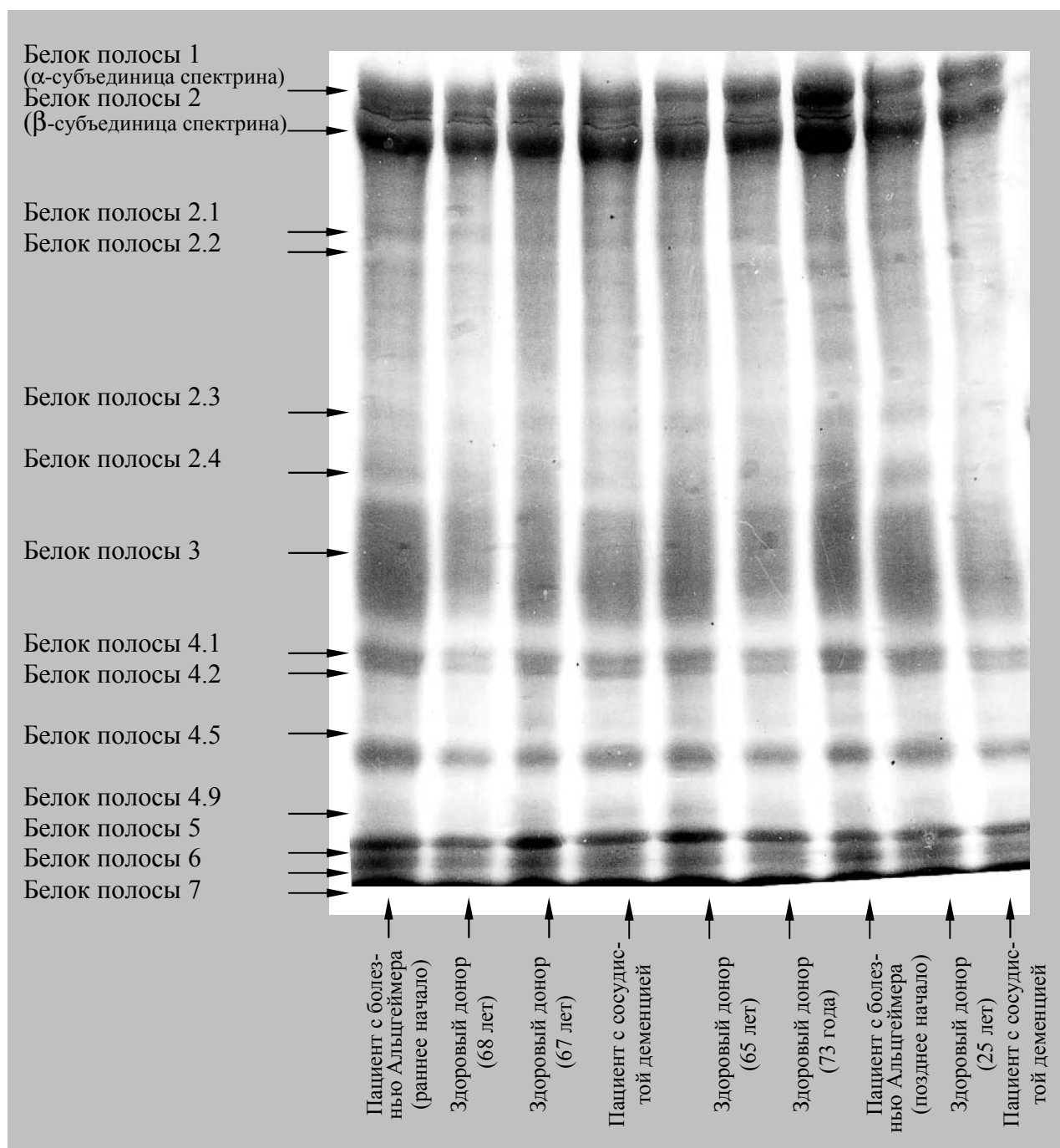


Рис. 2. Электрофореграмма белков мембраны эритроцитов у здоровых доноров молодого и пожилого возраста, пациентов с болезнью Альцгеймера и сосудистой деменцией

Так, например, в мембране эритроцитов выявлено увеличение среднего содержания фракций холестерина, эфиров холестерина и лизофосфолипидов [Величко Л.Н., Федорова В.М., 1981; Новгородцева Т.П. и соавт., 2002]. По данным литературы, при физиологическом старении отмечается возрастание агрегации и

окислительной денатурации мембранных протеинов, повышение их чувствительности к протеолизу, а также увеличение содержания белков полос 3, 4.1 и 4.2 в мембране клеток красной крови [Gaczynska M., 1992; Hashimoto E., Kageoka T., 1993; Ghailani N. et al., 1995; Bosman G. J. et al., 1996]. Все эти данные, на наш взгляд, убедительно свидетельствуют об отчетливой дезорганизации липидного и белкового составов при физиологическом старении, но является ли это проявлением самого процесса старения, либо каких-то заболеваний старческого возраста, предстоит еще выяснить.

Для изучения состояния мембраны красных клеток крови при патологическом старении нами были изучены особенности структурного статуса мембраны эритроцитов у пациентов с болезнью Альцгеймера.

При изучении липидного состава эритроцитарной мембраны больных деменцией альцгеймеровского типа было выявлено, что содержание общих липидов превышало их уровень в мембране клеток красной крови у здоровых доноров пожилого возраста ($p < 0,05$). Наряду с этим, процентное содержание фракций лизофосфатидилхолина, сфингомиелина, фосфатидилхолина, фосфоинозитолов и фосфатидилсерина в мембране эритроцитов при болезни Альцгеймера превосходило соответствующие значения при нормальном старении. В то же время, средний уровень фосфатидилэтаноламина у обследованных пациентов, напротив, был статистически значимо ниже ($p < 0,001$) такового у лиц пожилого возраста. При изучении активности фосфолипаз A_2 и D отмечалось ее возрастание по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых молодых доноров, при этом уровень активности указанных энзимов у пациентов с болезнью Альцгеймера по сравнению с соответствующими данными у здоровых доноров пожилого возраста статистически не различались ($p > 0,05$).

Нами было исследовано состояние липидной компоненты эритроцитарной мембраны у пациентов с болезнью Альцгеймера с разным клиническим течением заболевания по сравнению с аналогичными параметрами у психически здоровых доноров пожилого возраста. Такой интерес был продиктован тем, что выделение этих двух наиболее распространенных типов основано не только на различиях в возрасте начала заболевания, но и на характерных для каждой из указанных форм особенностях клинической картины и течения, а также на неоднородной психопатологической структуре синдрома деменции, что могло бы также отразиться и в нашем исследовании. Анализ липидного спектра позволил выявить однонаправленные изменения фракционного состава нейтральных липидов (увеличение доли эфиров холестерина и уменьшение процента общих фосфолипидов) у пациентов двух анализируемых групп. Наряду с этим, в спектре фосфолипидов мембраны красных клеток крови у пациентов с болезнью Альцгеймера с различным клиническим течением отмечалось статистически значимое увеличение содержания лизофосфатидилхолина, сфингомиелина, фосфатидилхолина, фосфатидилсерина и

фосфоинозитолов, а также снижение доли фосфатидилэтаноламина по сравнению с соответствующими показателями у психически здоровых доноров пожилого возраста. При этом отклонения одних показателей носили более выраженную степень при болезни Альцгеймера с ранним началом, других – при болезни Альцгеймера с поздним началом.

В целом полученные нами результаты не противоречат результатам исследований, полученных в других лабораториях. Так, при деменции альцгеймеровского типа были обнаружены отчетливые изменения липидной фазы мембраны клеток красной крови: повышение уровня холестерина и фосфатидилсерина на фоне снижения содержания общих фосфолипидов и фосфатидилэтаноламина [Chen C. et al., 1998; Halbreich A. et al., 1998]. В пользу факта поражения клеточной оболочки свидетельствуют и выявленные при этой патологии изменения фосфолипидной асимметрии в мембране эритроцитов [Sabolovic D. et al., 1997], снижение текучести мембраны эритроцитов [Muller W.E. et al., 1999; Kawahara M., Kuroda Y., 2001], а также усиление процессов липопероксидации [Mattson M.P. et al., 1997], закономерно приводящие к нарушению функции мембранных рецепторов и ферментов, а в конечном результате - к дисфункции самой клеточной оболочки [Rensburg S.J. et al., 1992].

Проведенный нами анализ белкового спектра эритроцитарной мембраны у пациентов с болезнью Альцгеймера показал отчетливое снижение доли высокомолекулярного белка полосы 2.2 (анкирина) и анионного переносчика – белка полосы 3 по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых доноров пожилого возраста. В то же время процентное содержание низкомолекулярного белка полосы 4.1 в мембране красных клеток крови у больных, напротив, превышало соответствующие величины у здоровых доноров пожилого возраста ($p < 0,05$). При исследовании белкового состава мембраны клеток красной крови у пациентов с различным клиническим течением заболевания было выявлено, что у пациентов с болезнью Альцгеймера с ранним началом заболевания увеличивалось среднее содержание белков 3, 4.1 и 5 при одновременном снижении доли протеина полосы 2.2. У больных с болезнью Альцгеймера с поздним началом заболевания отмечалось статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение процентного содержания белков полос 3 и 6 и уменьшение доли протеинов полос 2.1, 2.2 и 2.3. Представленные факты вполне согласуются с результатами других исследователей, занимавшихся данной проблемой. Так, при болезни Альцгеймера разными авторами обнаружены деградация полипептида 3 и увеличение доли белка полосы 4.1. в мембране клеток красной крови [Chauhan A. et al., 1993; Bosman G.J. et al., 1995; Kay M.M., Goodman J., 1997].

Сравнивая полученные результаты изменений структурного статуса мембраны клеток красной крови при физиологическом старении и болезни Альцгеймера, обращало на себя внимание обнаружение однонаправленности изменений липид-

ного и белкового составов мембраны эритроцитов при этих процессах, что может свидетельствовать в пользу существования универсальности механизмов возникновения этих нарушений.

Выявленное возрастание среднего содержания холестерина может вызывать существенные изменения во взаимодействиях между отдельными компонентами мембраны, в результате чего нарушается характер и прочность связей между белками и липидами. Учитывая тот факт, что холестерин в норме выполняет антиоксидантную функцию, а его накопление способствует защите клеточной мембраны от действия свободных радикалов, увеличение концентрации холестерина в эритроцитарной оболочке может быть следствием активации перекисного окисления липидов [Клебанов Г.И. и соавт., 1978, 1989]. В результате пероксидации фосфолипидной части мембраны нарушается также ее барьерная функция, изменяются вязкость бислоя, структурные и функциональные свойства мембранных белков, происходит увеличение полярности гидрофобной фазы мембраны. По мнению ряда авторов, при болезни Альцгеймера отмечаются существенные изменения в системе перекисного окисления липидов эритроцитов: уровень первичных продуктов окисления в мембране клеток красной крови повышается в 3 раза по сравнению с нормой [Mattson M.P. et al., 1997; Брагинская Ф.И. и соавт., 2000]. Активация свободнорадикального окисления приводит к выраженным структурным изменениям липидного бислоя мембраны, в результате чего происходит изменение ее текучести, что сопровождается ростом отношения холестерин/фосфолипиды, тесно коррелирующего с данным свойством мембраны, а также изменением мембранной проницаемости [Безрукова Г.А., Рубин В.И., 1989; Агеева Т.С. и соавт., 1994; Болдырев А.А. и соавт., 1996; Mattson M.P. et al., 1997].

Проведенный анализ фосфолипидного спектра мембраны клеток красной крови у больных с деменцией альцгеймеровского типа позволил выявить отчетливое увеличение уровня лизофосфолипидов. Несмотря на то, что лизофосфолипиды являются обязательными компонентами всех мембранных образований и принимают участие в синтезе некоторых фосфатидов, а также определяют динамические свойства мембран, их проницаемость, явления секреции, экзоцитоза, адгезии клеток, участвуют в регуляции большинства связанных с мембранами ферментов [Владимиров Ю.А., 1989; Грибанов Г.А., 1991; Зелинский Б.А., Паламарчук А.В., 1994], накопление лизофосфолипидов чревато серьезными нарушениями структуры и функции клеток, изменениями упаковки липидов мембраны эритроцитов, переходом липидного бислоя в монослой с нарушением проницаемости мембраны для Na^+ и K^+ , а также образованием гидрофильных каналов.

Закономерным следствием выявленного нами уменьшения содержания фосфатидилэтаноламина в мембране клеток красной крови при болезни Альцгеймера является нарушение антиокислительного статуса, так как этот фосфолипид играет важную роль в регуляции активности многих антиоксидантных ферментов [Зелинский Б.А., Паламарчук А.В., 1994].

ский Б.А., Паламарчук А.В., 1994]. Выявленные изменения фосфоинозитолов указывают на нарушение проницаемости клеточных мембран для ионов кальция (распад фосфоинозитолов сопровождается поступлением кальция в клетку, что ведет к снижению ее функциональной активности) [Rana R.S., Hokin L.E., 1990; Львовская Е.И. и соавт., 1996; Лескова Г.Ф., 1999; Юнева М.О. и соавт., 1999]. Кальций выступает в роли «вторичного мессенджера» и принимает участие в регуляции практически всех процессов клеточного метаболизма; нарушение его транспорта неминуемо приводит к изменению функциональной активности зрелых клеток в целом [Nixon R.A. et al., 1994; Kawahara M., Kuroda Y., 2001]. Совершенно очевидно, что возрастание содержания ионов кальция во внутриклеточной среде вызывает существенные изменения характера взаимодействия белков цитоскелета между собой, а также с интегральными белками мембраны, способствуя тем самым ее дестабилизации [Черницкий Е.А., Воробей А.В., 1981; Сторожок С.А. и соавт., 1997]. Так, обнаруженное увеличение внутриклеточной концентрации кальция в нейронах и эритроцитах при болезни Альцгеймера способствует ассоциации кальцийзависимых протеаз с белками мембраны и цитоскелета, что, в свою очередь, может способствовать нарушению упорядоченности структуры последнего и мембраны в целом [Mac Donald M.P., Seelig J., 1987; Молчанова Т.П., 1989; Romero P.J., Romero E.A., 1999]. Известно, что обогащение эритроцитов Ca^{2+} ускоряет процесс перехода фосфолипидов с внутреннего монослоя мембраны на наружный, что может быть связано с нарушением ассоциации мембранного каркаса, а также бислоя и приводит к изменению конфигурации спектрин-актиновой сети, уменьшению текучести мембраны, набуханию клетки [Лапшина Е.А., Заводник И.Б., 1994]. Ионам кальция принадлежит важная роль в регуляции состояния белкового цитоскелета. Установлено, что связывание белка полосы 4.1 с кальмодулином в присутствии кальция в значительной мере снижает сродство спектрина к актину, который, в свою очередь, при повышении концентрации ионов Ca^{2+} сохраняет свое мономерное состояние [Tanasa T. et al., 1991].

Повышение уровня отрицательно заряженного фосфатидилсерина в клеточной оболочке клеток красной крови, также обнаруженное в нашем исследовании, может влиять на распределение поверхностного заряда липидного бислоя, приводя к изменениям физического состояния мембраны эритроцитов [Kawahara M., Kuroda Y., 2001]. Поскольку поверхностный заряд клеточных мембран оказывает существенное влияние на процессы межклеточного взаимодействия, связывания с мембранными рецепторами и клеточную проницаемость, результатом изменений заряда мембраны может явиться модификация структуры мембранных белков [Емец и соавт., 1990; Дунаева А.Н. и соавт., 1991; Лапшина Е.А., Заводник И.Б., 1994].

Структурно-функциональная дезорганизация липидной компоненты приводит к конформационным и функциональным изменениям периферических и инте-

гральных белков мембраны (“ионных насосов”, рецепторов, транспортных и сигнальных систем) [Сюрин А.А. и соавт., 1990; Древаль В.И., Финашин А.В., 1991; Мацкевич Ю. А. и соавт., 1994; Ландышев С.Ю., 1998; Титов В.Н., 1999]. Липидный компонент не только формирует определенное гидрофобное окружение вокруг белка, но и создает условия для подвижности белковой молекулы в плоскости мембраны (латеральной и вращательной диффузии), без которой невозможно осуществление ее специфических функций [Кагава Я., 1985; Конев С.В., 1987].

Как показало проведенное исследование, при физиологическом старении и болезни Альцгеймера имеется отчетливая дезорганизация белкового спектра мембраны эритроцитов. Учитывая важную роль анкирина в поддержании структурной целостности и двояковогнутой формы эритроцитов, а также его взаимодействие с жирнокислотными остатками фосфолипидов, снижение уровня данного полипептида является серьезной причиной нарушения структуры мембраны и влечет за собой изменение ее механических и барьерных свойств [Черницкий Е.А., Воробей А.В., 1981; Конев С.В., 1987; Казеннов А.М., Маслова М.Н., 1991]. Белок полосы 4.1 также ответственен за поддержание стабильной формы эритроцита, что обусловлено его существенным влиянием на взаимодействие спектрина с актином (белок полосы 4.1 ускоряет процесс полимеризации актина и увеличивает его сродство к спектрину) [Молчанова Т.П., 1987; Шишкин С.С., 1989]. Известно, что взаимодействие белкового цитоскелета с мембраной эритроцита осуществляется главным образом через анкирин и белок полосы 4.1. Анкирин связывается фосфорилированным доменом с β -субъединицей спектрина, а посредством взаимодействия с доменом цитозоля белка полосы 3 контактирует со всей мембраной в целом. При этом белок полосы 4.1 взаимодействует с несколькими протеинами цитоскелета – спектрином, актином, интегральными белками – протеином полосы 3 и гликофориными, из чего следует, что изменение его содержания приводит к нарушению белок-белковых взаимодействий и, как следствие, к дестабилизации структуры цитоскелета, изменению вязко-эластических свойств мембраны и формы эритроцитов [Казеннов А.М., Маслова М.Н., 1987; Сторожок С.А., Санников А.Г., 1996].

Таким образом, при физиологическом старении и деменции альцгеймеровского типа отмечается отчетливая дезорганизация липидного и белкового составов мембраны красных клеток крови. Однако, подобная структурная модификация липидного и белкового компонентов мембраны эритроцитов традиционно рассматривается в контексте патологических изменений плазматических мембран. Вместе с тем, можно согласиться с устоявшимся мнением о том, что сформировавшиеся в процессе эволюции механизмы регуляции обмена веществ на молекулярном, клеточном и органном уровнях направлены на поддержание динамического постоянства обмена и функций клетки в изменяющихся условиях внутренней и внешней среды. Поэтому, когда речь идет о развитии патологического процесса и вовлече-

нии в каскад патологических реакций систем жизнеобеспечения, к которым с полным основанием можно отнести циркулирующий эритроцитарный пул, правильнее постулировать положение как о включении механизмов повреждения, так и о формировании защитно-приспособительных эффектов, реализуемых на молекулярно-мембранном уровне и направленных на обеспечение структурного гомеостаза, адаптацию клеточной популяции в целом. В частности, к числу адаптивных механизмов, вероятно, следует отнести модификацию липидного состава мембраны эритроцитов, что прежде всего обусловлено способностью ряда фосфолипидов выполнять роль синергистов ингибиторов окисления. Кроме того, свободный холестерол обладает способностью угнетать пероксидацию структурированных липидов за счет ограничения молекулярной подвижности жирнокислотных остатков фосфолипидных молекул. Поэтому накопление его в мембране до определенного уровня делает последнюю более устойчивой к действию свободных радикалов [Грибанов Г.А., 1991]. Однако, можно с достаточным основанием допустить, что нарушение нормального хода приспособительных реакций на молекулярном уровне является причиной развития мембрандеструктивных процессов в клетке. Выраженная дезорганизация липидной компоненты мембраны красных кровяных клеток, возникающая в условиях действия патогенных факторов, закономерно приводит к утрате способности клеток регулировать ионный и антиоксидантный гомеостаз, нарушению работы мембрансвязанных энзимов, что, в конечном итоге, способствует изменению метаболизма клетки, а также приводит к необратимым нарушениям ее структурно-функционального статуса [Болдырев А.А. , 1987; Владимиров Ю.А., 1989; Болдырев А.А. и соавт., 1996; Геннис Р., 1997].

В целом, проведенное исследование позволило выявить отчетливые изменения липидного и белкового компартментов мембраны эритроцитов у пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера. Однако, выявленный нами факт закономерно ставит вопрос: являются ли указанные изменения структурного статуса эритроцитарной мембраны проявлением самого патологического процесса, либо правомерно рассматривать конформацию клеточной оболочки эритроцитов у пациентов с деменцией альцгеймеровского типа как проявление иной патологии старческого возраста?

Для решения этой проблемы нами было произведено исследование липидного и белкового составов мембраны клеток красной крови при сосудистой деменции атеросклеротического генеза - наиболее частой психической патологии в пожилом и старческом возрасте. Учитывая факт, что атеросклероз - системное заболевание, вполне закономерно обнаруженные ранее другими авторами структурные нарушения плазматических мембран различных клеточных систем (лимфоциты, тромбоциты, гепатоциты) [Конкина Е.А. и соавт., 2000; Яворская В.А. и соавт., 2001]. Наряду с этим, в литературе приведены фрагментарные данные о нарушениях структурно-метаболических свойств мембраны эритроцитов (увеличе-

ние уровня холестерина, снижение доли фосфатидилэтаноламина, накопление продуктов перекисного окисления липидов в мембране, повышение ее микровязкости) [Kakio A. et al., 2001].

При исследовании липидного состава мембраны эритроцитов у пациентов с сосудистой деменцией атеросклеротического генеза в нашей лаборатории было выявлено статистически значимое снижение содержания общих фосфолипидов ($p < 0,05$) при одновременном возрастании доли эфиров холестерина ($p < 0,05$) по сравнению с их уровнем в эритроцитарной мембране у здоровых доноров пожилого возраста. Наряду с этим, в спектре фосфолипидов мембраны красных кровяных клеток у больных с сосудистой деменцией отмечалось увеличение доли сфингомиелина и фосфатидилсерина ($p < 0,001$); уровень фосфатидилэтаноламина, напротив, был снижен ($p < 0,001$). Вместе с тем, у обследованных пациентов были обнаружены статистически значимые изменения количественного распределения полипептидного состава, проявлявшиеся снижением доли высокомолекулярного протеина эритроцитарной мембраны анкирина (белки полос 2.2, 2.3), а также белка полосы 3 при увеличении процентного содержания низкомолекулярных белков полос 4.9, 6 и 7. Из этого следует, что в ходе проведенного исследования у пациентов с сосудистой деменцией была выявлена очевидная дезорганизация липидного и белкового составов эритроцитарной мембраны, отличная от таковой у здоровых доноров пожилого возраста, не имевшая, что весьма интересно, однонаправленности изменений с соответствующими показателями при деменции альцгеймеровского типа.

Для выявления интегральных параметров состояния мембраны клеток красной крови, позволяющих оценить характер и направленность изменений клеточной оболочки эритроцитов при физиологическом старении, болезни Альцгеймера и сосудистой деменции, нами был проведен дискриминантный анализ полученных результатов.

При анализе структурных изменений мембраны эритроцитов с помощью дискриминантного анализа были получены наиболее информативные признаки (процентное содержание эфиров холестерина, фосфатидилсерина и фосфоинозитолов, уровень белков полос 6 и 7, а также соотношения белок полосы 2.1/агрегированный белок, белок полосы 2.2/агрегированный белок и белок полосы 4.1/агрегированный белок), позволившие определить обследованных лиц на 100% в следующие три группы: здоровые доноры пожилого возраста, пациенты с сосудистой деменцией и болезнью Альцгеймера. При этом было показано, что показатели, по которым можно было судить о степени полома структурного статуса эритроцитарной мембраны при болезни Альцгеймера и физиологическом старении, располагались абсолютно в другой плоскости, чем область, отражавшая эти показатели у пациентов с сосудистой деменцией. Полученные результаты указы-

вают на общность изменений плазматических мембран клеток при деменции альцгеймеровского типа и физиологическом старении.

Все вышеизложенное в целом свидетельствует о выраженных изменениях структурно-функционального статуса мембраны эритроцитов при болезни Альцгеймера и физиологическом старении, тесно связанных между собой, но все же более выраженных при деменции альцгеймеровского типа. В указанном аспекте можно предположить, что само по себе старение может выступать не только как фактор риска, а возможно и как патогенетический механизм в развитии деменции альцгеймеровского типа.

ВЫВОДЫ

1. Физиологическое старение и психические расстройства старческого возраста (болезнь Альцгеймера, сосудистая деменция) сопровождаются дезорганизацией белкового и липидного компонентов эритроцитарной мембраны.

2. Изменения белкового спектра мембраны эритроцитов при старении организма характеризуются возрастанием содержания белков полос 3 и 4.5, нарушения липидного состава – увеличением доли холестерина, эфиров холестерина, лизофосфолипидов, фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина, а также фосфоинозитолов на фоне снижения содержания сфингомиелина и фосфатидилсерина.

3. Изменения липидного состава мембраны эритроцитов у пациентов, страдающих болезнью Альцгеймера (увеличение содержания холестерина, эфиров холестерина, лизофосфолипидов, фосфатидилхолина и фосфоинозитолов при уменьшении доли сфингомиелина, фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина), носят практически аналогичный характер с таковыми в эритроцитарной мембране у здоровых лиц пожилого и старческого возраста. Нарушения полипептидной композиции мембраны красных кровяных клеток при деменции альцгеймеровского типа характеризуются снижением содержания белка анкирина и увеличением доли пептидов полос 3, 4.1 и 5.

4. Дезорганизация липидного и белкового спектров мембраны эритроцитов у пациентов с болезнью Альцгеймера с ранним и поздним началом заболевания носит однонаправленный характер.

5. Нарушения структурного статуса мембраны эритроцитов при сосудистой деменции атеросклеротического генеза носят иной характер (изменения липидного спектра проявляются увеличением доли сфингомиелина и фосфатидилсерина, снижением уровня фосфатидилэтаноламина, белкового состава - снижением доли высокомолекулярного протеина анкирина (белки полос 2.2, 2.3), а также белка полосы 3 при увеличении процентного содержания низкомолекулярных белков полос 4.9, 6 и 7), чем при деменции альцгеймеровского типа.

6. Механизмы дезорганизации фосфолипидного состава мембраны эритроцитарных клеток при нормальном старении и болезни Альцгеймера связаны с активацией фосфолипаз A₂ и D.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Микрореологический статус эритроцитов при психических расстройствах // *Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины: Материалы II Российской конференции молодых ученых России с международным участием.* – Москва, 2001. – С. 75 - 76 (в соавт. с Власовой Н.М.).
2. Деменция альцгеймеровского типа и изменения липидной фазы мембраны эритроцитов // *Физиология организмов в нормальном и экстремальных состояниях. Сборник статей.* – Томск, 2001. – С. 88 - 90 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Токаревой Н.В. и др.)
3. Особенности липидного состава мембраны эритроцитов при болезни Альцгеймера // *Актуальные проблемы эволюционной и популяционной физиологии человека.* – Тюмень, 2001. – С. 51 - 52 (в соавт. с Рязанцевой Н.В. и Новицким В.В.).
4. Состояние липидной фазы мембраны эритроцитов при болезни Альцгеймера // *Актуальные проблемы патофизиологии.* – Санкт-Петербург, 2002. – С. 57 - 58 (в соавт. с Зусман А.М., Токаревой Н.В., Рязанцевой Н.В. и др.).
5. Структурные особенности мембраны эритроцитов при болезни Альцгеймера // *Всероссийская научная конференция «Биохимия-медицине».* – Санкт-Петербург, 2002. – С. 78 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Токаревой Н.В. и др.).
6. Изменения структурного статуса мембраны эритроцитов при болезни Альцгеймера // *Четвертый конгресс с международным участием «Паллиативная медицина и реабилитация в здравоохранении».* – Средиземноморье, 2002. – № 2 – 3. – С. 14 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Жуковой О.Б. и др.).
7. Особенности структурного статуса мембраны эритроцитов при сосудистой деменции // *Материалы городской научно-практической конференции, посвященной 40-летию Центральной научно-исследовательской лаборатории СГМУ «Современные аспекты биологии и медицины».* – Томск, 2002. – С. (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Токаревой Н.В. и др.).
8. Изменения липидной фазы мембраны эритроцитов при параноидной шизофрении // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2002. – № 1. – С. 98 - 101 (в соавт. с Рязанцевой Н.В. и Новицким В.В.).
9. Структурные особенности мембраны эритроцитов при сосудистой деменции // *Сибирский вестник психиатрии и наркологии.* – 2002. – № 2. – С. 12 – 15 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Агарковым А.П. и др.).
10. Изменения белкового и липидного составов мембраны эритроцитов при нормальном старении и болезни Альцгеймера // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* – 2002. – Приложение. – С. 45 – 49 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Леоновым В.П. и др.).