

Функциональное состояние клеточных мембран у больных мочекаменной болезнью

С.А. Голованов, М.Ю. Просяников, Н.В. Анохин, А.В. Сивков, О.И. Аполихин

НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России

Сведения об авторах:

Голованов С.А. – д.м.н., руководитель группы клинической лабораторной диагностики НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, sergeygo124@mail.ru, AuthorID 636685

Golovanov S.A. – Dr. Sc., clinical and laboratory diagnostic team leader N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation, sergeygo124@mail.ru, ORCID 0000-0003-4250-7398

Просяников М.Ю. – к.м.н., зав. отделом мочекаменной болезни НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, prosyannikov@gmail.com, AuthorID 791050

Prosiannikov M.Yu. – PhD, Head of Department of urolithiasis of N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation, prosyannikov@gmail.com, ORCID 0000-0003-3635-5244

Анохин Н.В. – к.м.н., младший научный сотрудник отдела мочекаменной болезни НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, anokhinmikolay@yandex.ru, AuthorID 880749

Anokhin N.V. – PhD, Researcher at the Department of urolithiasis of N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation, anokhinmikolay@yandex.ru, ORCID 0000-0002-4341-4276

Сивков А.В. – к.м.н., заместитель директора научно-исследовательского института урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, uroinfo@yandex.ru, AuthorID 622663

Sivkov A.V. – PhD, assistant director of N.A. Lopatkin Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation, uroinfo@yandex.ru, ORCID 0000-0001-8852-6485

Аполихин О.И. – д.м.н., профессор, член-корреспондент РАН, директор НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А. Лопаткина – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, sekr.urology@gmail.com, AuthorID 683661

Apolikhin O.I. – Dr. Sc., professor, corresponding member of the Russian Academy of Sciences. Director of N.A. Lopatkin. Scientific Research Institute of Urology and Interventional Radiology – Branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of Russian Federation, sekr.urology@gmail.com, ORCID 0000-0003-0206-043X

По современным представлениям инициация процессов камнеобразования в основном зависит от двух основных факторов: наличия бляшки/пробки Рэндалла в паренхиме почки и соотношения в моче литогенных соединений (метаболических факторов риска), ингибиторов и промоторов процессов кристалло- и камнеобразования [1]. В конечном счете, химический состав мочи является интегральным результатом процессов избирательного транспорта, протекающего в мембранах клеток тубулярного эпителия почек. В связи с этим исследование свойств мембранного аппарата клеток эпителия канальцев имеет существенное значение для выяснения особенностей патогенеза мочекаменной болезни (МКБ).

С другой стороны, само образование камней в мочевых путях часто сопровождается нарушением уродинамики. Это способствует возникновению микроциркуляторных расстройств, развитию дистрофических и воспалительных процессов в почечной ткани, наруше-

нию структуры и функции клеточных мембран [2].

Одним из ключевых механизмов повреждения клеток, в том числе гипоксического или воспалительного характера, считают свободнорадикальное окисление и, в частности, перекисное окисление липидов (ПОЛ) цитомембран [3]. Между клеточными мембранами и внеклеточной средой происходит непрерывный обмен веществ, поэтому мембраны клеток способны, с одной стороны, определять характер метаболизма в целом, а с другой – служить своеобразным отражением его состояния, его обобщенным критерием. Очевидно также, что по комплексу биохимических параметров плазмы или мочи можно судить о состоянии мембранного аппарата клеток. Сказанное относится, по-видимому, ко всем типам клеточных мембран, включая почечные, постоянно контактирующие с канальцевой жидкостью и плазмой крови. Однако данных о том, в какой степени состояние клеточных мембран при МКБ способно отражать характер системного метаболизма не имеется.

В связи с этим, в отдельной серии исследований была сделана попытка выявить связь между функциональным состоянием клеток, точнее, физико-химическим состоянием их мембран, и метаболическими показателями мочи и крови у больных уролитиазом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе исследованы данные 68 человек, из которых 35 пациентов (19 мужчин и 16 женщин) в возрасте от 23 до 61 лет с диагнозом МКБ, хронический пиелонефрит в стадии ремиссии. В качестве контроля исследовали мочу (33 человека) и кровь (15 человек) практически здоровых людей.

Продукты ПОЛ определяли в плазме крови, в мембранах эритроцитов и моче больных. Активность процессов ПОЛ оценивали по уровню первичных (диеновые конъюгаты) и вторичных (малоновый диальдегид) продуктов липидной пероксидации. Кроме того, выполнялся комплекс исследований для определения известных клинико-биохимических

показателей (клиренса креатинина, мочевины, креатинина, электролитов, концентрации кальция, мочевой кислоты, фосфатов крови и их экскреции с мочой и других).

Для поиска связи между физико-химическим состоянием мембран клеток крови и метаболическими показателями мочи и крови у больных уролитиазом использовали мембранный флуоресцентный зонд пирен [4], который включали в гидрофобную липидную часть мембраны изолированных лимфоцитов крови [5] больных МКБ.

Исследование интенсивности флуоресценции мембранных зондов выполняли на флуоресцентном спектрофотометре Hitachi 650-10 S (Япония).

Взвесь лимфоцитов крови выделяли центрифугированием в градиенте фиколла-верографина [6]. Однородность клеточного состава контролировали микроскопически. Гидрофобный зонд пирен добавляли к взвеси лимфоцитов крови до конечной концентрации 5 мкм на $5 \cdot 10^6$ клеток. Принцип метода флуоресцентных зондов основан на том, что спектр и интенсивность флуоресценции встроенных в мембрану молекул некоторых химических соединений (зондов) меняются в зависимости от физико-химического состояния клеточных мембран.

Параметры микровязкости и полярности микроокружения мембранных липидов оценивали с помощью гидрофобного зонда пирена («зонда на липиды»). Метод основан на явлении эксимеризации встроенного в биомембрану пирена. Интенсивность флуоресценции в мембране возбужденных димеров (эксимеров) пирена ($F_{470 \text{ нм}}$) пропорциональна уменьшению микровязкости липидного микроокружения биомембраны, то есть, повышению текучести мембраны.

При этом общую микровязкость мембраны, точнее ее текучесть, оценивали как отношение интенсивностей флуоресценции эксимеров и мономе-

ров пирена ($F_{470 \text{ нм}}/F_{393 \text{ нм}}$) при волне возбуждения 337 нм. Степень эксимеризации пирена в приобелковых зонах липидного бислоя определяется как $F_{470 \text{ нм}}/F_{393 \text{ нм}}$ при 286 нм; полярность всего бислоя – как соотношение $F_{372 \text{ нм}}/F_{393 \text{ нм}}$ при 337 нм; полярность приобелковых зон липидного бислоя мембраны – как $F_{372 \text{ нм}}/F_{393 \text{ нм}}$ при 286 нм.

Определяли также глубину проникновения мембранных белков в липидный бислой по тушению пиреном флуоресценции триптофановых остатков белковых молекул. Параметр рассчитывается как отношение флуоресценции белков при добавлении пирена ($F_{330 \text{ нм}}$) к исходному уровню флуоресценции мембранных белков ($F_{330 \text{ нм}}^0$), то есть, как $F_{330 \text{ нм}}/F_{330 \text{ нм}}^0$ и волне возбуждения 286 нм.

Полученные с помощью зондов показатели физико-химического состояния мембран лимфоцитов крови подвергали корреляционному анализу с 68 биохимическими показателями мочи и крови 24 больных МКБ.

Функциональную активность клеточных мембран активированных лейкоцитов цельной крови проводили по методу регистрации сверхслабой хемилюминисценции, описанной Ю.А. Владимировым и соавт., с использованием микрокристаллов сульфата бария [7,8].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты, приведенные в таблице 1, свидетельствуют о выраженной лейкоцитурии и десквамации тубулярного эпителия у больных МКБ. Выделение эпителиальных клеток с мочой при уролитиазе было в 2,5 раза более выраженным, чем у здоровых лиц, а лейкоцитов – в 19,5 раз ($p < 0,025$), что указывает на наличие хронического воспалительного процесса в почечной паренхиме.

При этом значения эпителиурии и лейкоцитурии у больных также оставались высокими и составляли соответственно $0,51 \pm 0,11$

и $2,71 \pm 1,31$ тыс кл/мМ креатинина, по сравнению со значениями, характерными для здоровых лиц ($0,16 \pm 0,04$ и $0,09 \pm 0,02$ тыс кл/мМ креатинина соответственно, $p < 0,01$).

В бесклеточном супернатанте мочи больных МКБ концентрация липидов превышала нормальные значения более чем в 13 раз, увеличиваясь с $7,98 \pm 1,18$ мг/л до $106,4 \pm 34,3$ мг/л ($p < 0,005$). Возможно, это является следствием процессов мембранолиза, активно протекающих в клетках почечной паренхимы при уролитиазе.

Наряду с указанными изменениями у больных уролитиазом отмечалась повышенная экскреция с мочой первичных продуктов липидной перекисидации – диеновых конъюгатов (ДК) (табл. 1). Их концентрация в моче больных более чем в 2,7 раза превышала нормальные значения, достигая $3,12 \pm 0,93$ мкМ/л ($p < 0,05$). Это свидетельствует об активации начальных этапов свободнорадикального окисления мембранных липидов в клетках тубулярного эпителия и участии липидной перекисидации в процессах нарушения структуры и функции почечной ткани при уролитиазе.

В отличие от почечной ткани характер липидной перекисидации в плазме крови имел свои особенности. Содержание малонового диальдегида (МДА) в плазме крови возрастало в 1,6 раза по сравнению с нормой, достигая значений $1,26 \pm 0,15$ мкМ/л ($p < 0,05$).

Учитывая то, что процесс липидной перекисидации протекает в липидной фазе и непосредственно зависит от количества субстрата, рассчитывали также коэффициент «продукты ПОЛ плазмы крови/общие липиды плазмы крови». Величина этого соотношения для МДА также была высокой: содержание МДА плазмы в расчете на единицу концентрации липидов плазмы составляло $0,25 \pm 0,03$ мкМ/г по сравнению со значением $0,14 \pm 0,008$ мкМ/г, характерным для здоровых лиц ($p < 0,05$). Однако уровень диеновых

конъюгатов при этом заметно не изменялся.

В качестве одной из возможных причин обнаруженных сдвигов в процессах липидной перекисидации при МКБ следует рассматривать истощение различных звеньев антиоксидантных систем крови, в том числе мембранных. Исследование эритроцитарных мембран подтвердило это предположение: уровень МДА в мембранах эритроцитов крови возрос в 1,6 раза по сравнению с нормой, достигая $6,35 \pm 0,57$ мкМ/л плотно упакованных эритроцитов ($p=0,01$).

Обобщая результаты корреляционного анализа можно заключить, что физико-химические свойства мембран клеток крови, в данном случае лимфоцитов, способны отражать функциональное состояние мембран клеток тубулярного эпителия почек. Действительно, такие показатели почечного метаболизма, как экскреция фосфатов, оксалатов и рН мочи имеют отчетливо выра-

женную связь с параметрами полярности липидного бислоя и глубиной проникновения в него интегральных мембранных белков (табл. 2).

Известно, что усиление интенсивности ПОЛ в биомембране ведет к повышению ее микровязкости за счет разрывов цепей полиненасыщенных жирных кислот в мембранных фосфолипидах [9]. Возможно, при МКБ активация свободно-радикального окисления (СРО) липидов происходит также в лимфоцитах, поскольку установлено снижение микровязкости их мембран при повышении активности ПОЛ в плазме крови и мембранах эритроцитов ($R=-0,332$) (табл. 2).

Еще одно подтверждение системного характера мембранных нарушений при уролитолизе было получено при исследовании функциональной активности лейкоцитов крови методом хемилюминесценции.

Обнаружено, что высота ам-

плитуды вспышки люминесценции (h) у больных была значительно ниже, чем у здоровых лиц, составляя $4,08 \pm 0,77$ против $19,1 \pm 2,64$ усл. ед. ($p<0,001$). Поскольку интенсивность свечения зависит от количества лейкоцитов в образце крови, определяли нормированную величину хемилюминесценции, в расчете на 1000 лейкоцитов. Этот показатель также был ниже у больных уролитолизом – $1,11 \pm 0,24$ усл. ед., тогда как у здоровых лиц он составлял $4,04 \pm 0,39$ усл. ед. ($p<0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют, что при МКБ наблюдается угнетение ответа фагоцитов крови на стимуляцию микрокристаллами сернокислого бария. Как известно, пусковым моментом в развитии полноценной фагоцитарной реакции является взаимодействие чужеродной поверхности

Таблица 1. Показатели перекисного окисления липидов и результаты микроскопии осадка мочи у здоровых лиц и больных МКБ

Показатель	Единицы измерения	Здоровые лица (M ± m)	n	Больные уролитолизом (M ± m)	n	p
Сыворотка крови						
МДА	мкМ/л	0,79 ± 0,05	15	1,26 ± 0,15	35	< 0,05
ДК	мкМ/л	15,60 ± 2,21	15	21,01 ± 3,89	35	н.д.
ОЛ	г/л	5,75 ± 0,09	15	5,37 ± 0,08	35	< 0,01
МДА/ОЛ	мкМ/г	0,14 ± 0,008	15	0,25 ± 0,03	35	< 0,05
ДК/ОЛ	мкМ/г	2,68 ± 0,35	15	3,96 ± 0,78	35	н.д.
Эритроциты крови						
МДА	мкМ/л	3,98 ± 0,15	15	6,35 ± 0,57	35	0,01
ДК	мкМ/л	8,40 ± 0,46	15	6,95 ± 0,70	35	н.д.
Моча						
МДА	мкМ/л	7,04 ± 0,57	33	6,50 ± 2,09	35	н.д.
ДК	мкМ/л	1,14 ± 0,15	33	3,12 ± 0,93	35	< 0,05
ОЛ	мг/л	7,98 ± 1,18	33	106,4 ± 34,3	35	< 0,005
МДА/ОЛ	мкМ/мг	2,26 ± 0,66	33	0,12 ± 0,06	35	< 0,01
ДК/ОЛ	мкМ/мг	0,33 ± 0,15	33	0,16 ± 0,10	35	н.д.
Креатинин	мм/л	10,58 ± 0,79	33	7,99 ± 0,71	35	< 0,05
МДА/креатинин	мкМ/мм	0,67 ± 0,05	33	0,70 ± 0,11	35	н.д.
ДК/креатинин	мкМ/мм	0,12 ± 0,02	33	0,41 ± 0,10	35	< 0,01
ОЛ/креатинин	мг/мм	0,89 ± 0,16	33	15,17 ± 4,70	35	< 0,001
Эпителий	тыс кл/мл	1,30 ± 0,27	33	3,19 ± 0,54	35	< 0,001
Лейкоциты	тыс кл/мл	0,86 ± 0,19	33	16,75 ± 8,77	35	< 0,025
Эпителий//креатинин	тыс кл/мм	0,16 ± 0,04	33	0,51 ± 0,11	35	< 0,001
Лейкоциты//креатинин	тыс кл/мм	0,09 ± 0,02	33	2,71 ± 1,31	35	< 0,01

Примечание: МДА – малоновый диальдегид; ДК – диеновые конъюгаты; ОЛ – общие липиды; P – статистический показатель достоверности различия; н.д. – не достоверно (отсутствие статистически значимого различия); n – число наблюдений в группах

с плазматической мембраной фагоцита. Принимая во внимание, сказанное ранее о развитии при уролитолизе функциональных нарушений мембран в клетках различного типа (канальцевого эпителия, эритроцитов, лимфоцитов), можно полагать, что подобные мембранные изменения возникают также и в фагоцитах крови.

Анализ полученных данных дает основание утверждать, что активация ПОЛ в плазме у больных МКБ сопровождается усиленной липидной перекисидацией в мембранах других клеток: эпителия почечных канальцев, эритроцитов, лимфоцитов и нейтрофилов крови. На это указывает также положительная корреляция между нарастанием продуктов ПОЛ в плазме крови и накоплением их в эритроцитарных мембранах, повышением экскреции продуктов липидной перекисидации с мочой, а также снижением функциональной активности стимулированных лейкоцитов.

Таким образом, при МКБ наблюдаются множественные мем-

бранные нарушения, которые можно рассматривать как системную мембранную патологию. Одной из причин этого является системная активация перекисного окисления липидов с вовлечением в процесс, как плазменных липидов, так и мембранных липидов клеток почечного эпителия, эритроцитов и, по-видимому, лейкоцитов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При уролитолизе можно выделить три главных патогенетических звена: активация ПОЛ – мембранные нарушения – нарушения метаболизма. Эти звенья взаимно влияют друг на друга и весьма тесно связаны между собой, поэтому их причинно-следственные отношения нуждаются в отдельном изучении. По-видимому, мембранные перестройки, возникающие в силу ряда причин, в том числе под влиянием перекисного окисления липидов, способны приводить к изменениям обмена веществ, характерным для МКБ.

Можно полагать, что перекисное окисление липидов первоначально активируется в почечной паренхиме как местный процесс, локализуясь некоторое время на клеточном или органном уровне. В дальнейшем активная липидная перекисидация может приводить к ослаблению антиоксидантной защиты организма в целом, приобретая, таким образом, системный характер. Об этом свидетельствует нарастание содержания продуктов ПОЛ в плазме крови и эритроцитарных мембранах.

Пока не ясно, является ли активация ПОЛ при МКБ первичным звеном в развитии мембранной патологии или представляет собой дополнительный патогенетический фактор, поддерживающий вторичную клеточную альтерацию, воспаление и нарушение почечной функции. Этот вопрос требует дальнейшего изучения. Тем не менее, можно полагать, что в комплексном лечении МКБ определенное внимание должно быть уделено выявлению нарушений антиоксидантной системы и их коррекции. ■

Таблица 2. Коэффициенты корреляции параметров микровязкости, полярности микроокружения лимфоцитов крови и метаболических показателей при мочекаменной болезни

Показатель	Текучесть всего бислоя	Текучесть приобелковой зоны	Полярность всего бислоя	Полярность приобелкового бислоя	Глубина проникновения белков в бислоя
Кровь					
Глобулины		0,555			
Билирубин		-0,436			
Глюкоза				0,578	-0,489
Осмолярность			-0,823		
ХС-ЛПВП		0,455			
ОЛ					-0,511
СМ254		-0,551			
МДА/ОЛ	-0,332**	-0,833			
МДА		-0,416			
Эритроциты крови					
Фосфаты			-0,572		
pH				0,769	-0,747
Оксалаты			-0,645		
Моча					
МДА		-0,413*			

Примечание: коэффициенты корреляции приведены при $p < 0,05$. Сокращения: ХС-ЛПВП – холестерин липопротеидов высокой плотности; СМ254 – среднемолекулярные токсины («средние молекулы») при спектроскопии 254 нм. Остальные сокращения те же, что и в таблице 1. * - $P=0,056$; ** - $P=0,078$

Ключевые слова: мочекаменная болезнь, патогенез, активация перекисного окисления липидов, мембранные нарушения, нарушения метаболизма.

Key words: urolithiasis, pathogenesis, activation of lipid peroxidation, membrane disorders, metabolic disorders.

DOI: 10.29188/2222-8543-2019-11-2-87-91

Резюме:

Изучали зависимость между метаболическими показателями мочи и крови и физико-химическим состоянием клеточных мембран у больных уролитиазом.

Материалы и методы. Обследовано 35 пациентов (19 мужчин и 16 женщин) в возрасте от 23 до 61 лет с диагнозом МКБ. В качестве контрольной группы были исследованы 33 практически здоровых человека. Микровязкость клеточных мембран у больных уролитиазом и здоровых лиц оценивали методом мембранных флуоресцентных зондов с помощью гидрофобного зонда пирена. Определяли уровень первичных (диеновые конъюгаты) и вторичных (малоновый диальдегид) продуктов липидной перекисидации в сыворотке крови и моче.

Результаты. В бесклеточном супернатанте мочи больных МКБ концентрация липидов превышала нормальные значения более чем в 13 раз, увеличиваясь с $7,98 \pm 1,18$ мг/л до $106,4 \pm 34,3$ мг/л ($p < 0,005$). Отмечена повышенная экскреция с мочой первичных продуктов липидной перекисидации – диеновых конъюгатов. Содержание вторичных продуктов липидной перекисидации, которое оценивали по концентрации малонового диальдегида, в плазме крови и в эритроцитарных мембранах у больных МКБ было в 1,6 выше, по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0,05$), что указывало на развитие оксидативного стресса при уролитиазе.

Обсуждение. Известно, что усиление интенсивности перекисного окисления липидов в биомембране ведет к повышению ее микровязкости за счет разрывов цепей полиненасыщенных жирных кислот в мембранных фосфолипидах. С помощью флуоресцентного зонда пирена, способного встраиваться в гидрофобную внутреннюю часть липидного бислоя биомембран, показано возрастание микровязкости клеточных мембран лимфоцитов крови пациентов с МКБ, обусловленное, по-видимому, системной активацией процессов ПОЛ. Те же процессы свободнорадикального окисления, очевидно, лежат в основе нарушения функциональной активности лейкоцитов крови, стимулированных контактом с микрокристаллами сернистого бария. Высота амплитуды вспышки люминесценции, отражающей фагоцитарную активность этих клеток, у больных МКБ была в 3,6 раза ниже, чем у здоровых лиц ($p < 0,001$). Это подтверждает важную роль состояния плазматической мембраны в патогенезе МКБ.

Заключение. Таким образом, при МКБ наблюдаются множественные мембранные нарушения как клеток крови (эритроцитов, лимфоцитов, гранулоцитов), так и клеток канальцевого эпителия почек, что следует рассматривать как проявление системной мембранной патологии, развивающейся у больных на фоне оксидативного стресса. Можно полагать, что системная активация процессов свободно-радикального окисления, сопровождающаяся нарушением функционального состояния клеточных мембран, является одним из важных звеньев патогенеза МКБ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Summary:
The functional state of cell membranes in patients with urolithiasis**

S.A. Golovanov, M.Yu. Prosyannikov, N.V. Anokhin, A.V. Sivkov, O.I. Apolikhin

We studied the association between metabolic parameters of urine and blood in relationship with physical and chemical state of cell membranes in patients with urolithiasis.

Materials and Methods: Thirty five patients (19 men and 16 women) aged between 23 and 61 years with urolithiasis were evaluated. Microviscosity of cell membranes in patients with urolithiasis and healthy subjects was assessed by fluorescent membrane probes using pyrene as a hydrophobic probe. Level of primary (diene conjugates) and secondary (malondialdehyde) products of lipid peroxidation in blood serum and urine was determined.

Results. Acellular urine supernatant in urolithiasis patients had lipid concentration ($15,17 \pm 4,70$ mg per mmol of creatinine) which surpassed normal values ($0,89 \pm 0,16$ mg per mmol of creatinine) 17 times, which reflected the destruction of membranes of renal epithelial cells in urolithiasis. An increased excretion of primary products of lipid peroxidation (diene conjugates) was found. Presence of secondary products of lipid peroxidation, which was assessed by concentration of malondialdehyde, in blood plasma and erythrocyte membranes in patients with urolithiasis was 1.6 times higher when compared with healthy subjects ($p < 0.05$), which hinted at oxidative stress in urolithiasis.

Discussion. It is known that intensification of lipid peroxidation in biological membrane leads to an increase in microviscosity due to breaks in chains of polyunsaturated fatty acids in membrane phospholipids. Using pyrene as a fluorescent probe able to introduce itself into hydrophobic inner part of lipid double layer of biomembranes, we demonstrated an increase in microviscosity of cell membranes of blood lymphocytes in patients with urolithiasis which was seemingly related to a systemic activation of lipid peroxidation. The same process of free radical oxidation obviously leads to a decrease in functional activity of white blood cells stimulated by barium sulphate microcrystals. Amplitude of luminescence flash, which reflects the phagocytic activity of these cells, was 3.6 times lower in urolithiasis patients when compared to healthy subjects ($p < 0,001$). This reflects an important role of state of plasma membranes in pathogenesis of urolithiasis.

Conclusion: Thus, multiple membrane disorders of blood cells (erythrocytes, lymphocytes, granulocytes) and cells of renal tubular epithelium are observed in urolithiasis, and this may be interpreted as a manifestation of systemic membrane disorder in patients with oxidative stress. It may be suggested, that systemic activation of free radical oxidation, accompanied by an impairment of functional state of cell membranes, is one of the most important components in pathogenesis of urolithiasis.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

ЛИТЕРАТУРА

1. Taylor ER, Stoller ML. Vascular theory of the formation of Randall plaques. *Urolithiasis* 2015; 43:41–45. doi: 10.1007/s00240-014-0718-4.
2. Просьянников М.Ю., Анохин Н.В., Голованов С.А., Кирпатовский В.И., Сивков А.В., Константинова О.В., Иванов К.В., Аполихин О.И. Мочекаменная болезнь и сердечно-сосудистые заболевания: только статистическая связь или общность патогенетических механизмов? *Экспериментальная и клиническая урология* 2018;(3):34–41.
3. Владимиров Ю.А., Арчаков А.И., Франк Г.М. (ред.) Перекисное окисление липидов в биологических мембранах М.: Наука, 1972. 252 с.
4. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов. М.: Наука. 1989. 277 с.
5. Böym A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scand J Clin Lab Invest* 1968. 97:7.
6. Böym A. Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Isolation of mononuclear cells by one centrifugation, and of granulocytes by combining centrifugation and sedimentation at 1 g. *Scand J Clin Lab Invest* 1968;97:77–89.
7. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П., Пирязев А.П. Стимулированная кристаллами сульфата бария хемиллюминесценция лейкоцитов цельной крови. *Биофизика* 1989;XXXIV(6): 1051–1054.
8. Добрецов Г.Е., Петров В.А., Борщевская Т.А., Деев А.И., Владимиров Ю.А. Влияние перекисного окисления на физическую структуру фосфолипидных мембран. *Вопросы медицинской химии*. 1977;23(6):818–822.
9. Yanagawa K, Takeda H, Egashira T, Sakai K, Takasaki M, Matsumiya T. Age-related changes in alpha-tocopherol dynamics with relation to lipid hydroperoxide content and fluidity of rat erythrocyte membrane. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1999;54(9): B379–83

REFERENCES (2-4, 7, 8)

2. Prosyannikov M.YU., Anokhin N.V., Golovanov S.A., Kirpatovskiy V.I., Sivkov A.V., Konstantinova O.V., Ivanov K.V., Apolikhin O.I. Mochekamennaya bolezn serdechno-sosudistyte zaboлевaniya: tol'ko statisticheskaya svyaz ili obshchnost' patogeneticheskikh mekhanizmov? [Urolithiasis and cardiovascular diseases: only a statistical link or a common pathogenetic mechanism?] *Экспериментальная и клиническая урология* 2018;(3):34–41. (In Russian)
3. Vladimirov YU.A., Archakov A.I., Frank G.M. [Editors] *Perekisnoye okisleniye lipidov v biologicheskikh membranakh*. [Lipid peroxidation in biological membranes]. M.: Nauka, 1972. 252 p. (In Russian)
4. Dobretsov G.Ye. *Fluorescentnyye zondy v issledovanii kletok, membran i lipoproteinov*. M.: Nauka. 1989. 277 p. (In Russian)
7. Vladimirov YU.A., Sherstnev M.P., Piryazev A.P. Stimulirovannaya kristallami sul'fata bariya khemiluminestsentsiya leykotsitov tsel'noy krovi. [Stimulated by barium sulfate crystals chemiluminescence of whole blood leukocyte]. *Biofizika* 1989;XXXIV(6): 1051–1054. (In Russian)
8. Dobretsov G.Ye., Petrov V.A., Borshchevskaya T.A., Deyev A.I., Vladimirov YU.A. Vliyaniye perekisnogo okisleniya na fizicheskuyu strukturu fosfolipidnykh membran. [The effect of peroxidation on the physical structure of phospholipid membranes]. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1977;23(6):818–82. (In Russian)