

Состояние периферического звена эритрона при дисплазии соединительной ткани у детей

Пономарёва Д.А.

Status of peripheral blood erythrocytes in children with connective tissue dysplasia

Ponomaryova D.A.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Пономарёва Д.А.

Изучено состояние периферического звена эритрона у 51 ребенка с дисплазией соединительной ткани в возрасте 8—12 лет. Выявлены изменения поверхностной архитектоники эритроцитов, снижение концентрации тиоловых групп и липопротеинового комплекса, достоверное повышение содержания диеновых конъюгатов, усиление активности ферментов антиоксидантной системы. Структурно-метаболические изменения эритроцитов сопровождались у 13% детей обследованной группы развитием анемии.

Ключевые слова: дисплазия соединительной ткани, эритроциты, перекисное окисление липидов, дети.

Status of peripheral blood erythrocytes was studied in 51 children aged 8 to 12 years with connective tissue dysplasia (CTD). There were revealed modifications superficial architectonics of red cells, decreased thiol groups and lipoprotein complex, increased content of diene conjugates and antioxidant activity. Structural and metabolic abnormalities of peripheral blood erythrocytes in 13% children with CTD were accompanied by anemia.

Key words: connective tissue dysplasia, erythrocytes, lipid oxidative processes, children.

УДК 616-018.2-007.17-053.2

Введение

С позиции современных представлений дисплазия соединительной ткани (ДСТ) рассматривается как нарушение развития соединительной ткани в эмбриональном и постнатальном периодах, сопровождающееся морфофункциональными нарушениями органов и систем, прогрессивным течением [4, 16, 17]. Как известно, клетки крови и кроветворная ткань эмбриогенетически имеют мезенхимальное происхождение и являются разновидностью соединительной ткани [10]. В настоящее время достаточно подробно исследовано состояние сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного звеньев системы гемостаза при ДСТ. К симптомокомплексу геморрагических гематомезенхимальных дисплазий относят разнонаправленные нарушения гемостаза, включающие тромбоцитопатию, снижение активности факторов свертывающей системы, нарушения конечного этапа свертывания крови [11—13, 15, 21]. В литературе имеются немногочисленные сведения о вовлечении в патологический процесс системы эритрона у взрослых пациентов с ДСТ. Выявлены изменения структурно-функционального состояния мембран эритроцитов, проявляющиеся уменьшением уровня сфингомиелина, холестерина,

снижением активности $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-АТФ-азы}$ с нарушением внутриклеточного ионного гомеостаза [14]. Показано, что избыточная интенсификация свободно-радикального окисления является одним из ключевых механизмов развития деструктивных процессов в клеточных мембранах [1, 20], что отражено в отдельных работах по изучению ДСТ в терапевтических клиниках [8]. Вместе с тем нарушения структурно-метаболического статуса эритроцитов периферической крови при ДСТ у детей остаются неизученными.

Целью данной работы явилось исследование состояния периферического звена эритрона при дисплазии соединительной ткани у детей.

Материал и методы

Для выявления фенотипических признаков ДСТ выполнено скрининговое обследование 482 школьников г. Томска в возрасте 8—12 лет с применением диагностических критериев Т. Милковска-Димитровой и А. Каркашева в модификации Л.Н. Фоминой [7, 18]. Специальная комплексная оценка состояния периферического звена эритрона, включающая определение количественных показателей красной крови,

Пономарёва Д.А.

Состояние периферического звена эритрона при дисплазии соединительной ткани у детей

концентрации сульфгидрильных групп (SH-групп) и липопротеинового комплекса, изучение поверхностной архитектоники эритроцитов, интенсивности процессов перекисного окисления липидов, проведена у 51 ребенка (23 мальчика и 28 девочек, средний возраст $(10,2 \pm 0,2)$ года) с клинико-инструментальными проявлениями ДСТ. В качестве маркерного метаболита обмена коллагена в тканях изучалось количественное содержание оксипролина в суточной моче по Н. Stegeman в модификации В.В. Гапузова [3]. Контроль составили 22 ребенка без ДСТ, сопоставимых по полу, возрасту, группам здоровья с пациентами основной группы. Исследования проводились при отсутствии острых заболеваний и в период ремиссии хронической патологии.

Количественное определение сульфгидрильных групп и липопротеинового комплекса производили методом микроцитометрии с окраской мазков феррицианидным реактивом по Chevremont, Frederic для выявления SH-групп и методом Varenbaum с использованием жженого судана черного для определения липопротеинов [5]. Поверхностную архитектуру эритроцитов изучали с помощью сканирующей электронной микроскопии, образцы готовили по методике Г.И. Козинца и соавт. (1982). Интенсивность протекания процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме крови исследовали с помощью определения содержания диеновых конъюгатов методом спектрофотометрии в УФ-области и малонового диальдегида в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой [2]. Система антирадикальной защиты красных клеток крови оценивалась по активности супероксиддисмутазы и каталазы в гемолизате эритроцитов [6]. При выявлении у детей с ДСТ анемического синдрома дополнительно проводилось определение сывороточного железа, общей железосвязывающей способности сыворотки и коэффициента насыщения трансферрином.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием интегрированного пакета программ Statistica 6.0 для Windows. Определялись среднее арифметическое X и ошибка среднего арифметического m . Уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей устанавливали с помощью t -критерия Стьюдента в случаях, когда распределение подчинялось нормальному закону, и непараметрического U -критерия Манна—Уитни в случаях отклонения распределений от нормального. Различия между средними величинами в сравниваемых группах считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По результатам проведенного обследования фенотипические проявления ДСТ обнаружены впервые у 86 (18%) из 482 школьников. В основной группе (51 человек) ДСТ умеренной степени имела место у 32 (63%) (1-я группа), выраженной степени — у 19 (37%) детей (2-я группа). Важное значение в диагностике ДСТ имеет биохимическое определение уровня оксипролина [4, 8, 19]. Так, суточная экскреция оксипролина с мочой была значительно повышена в 1-й (до $(9,83 \pm 0,42)$ мг) и 2-й (до $(12,43 \pm 0,63)$ мг) группах по сравнению с детьми без ДСТ ($(4,42 \pm 0,41)$ мг; $p < 0,001$).

В рамках декретированных медицинских осмотров определение количественных показателей красной крови (гемоглобин, эритроциты, ретикулоциты) проведено всем школьникам. Среди детей основной группы наличие анемии легкой степени со снижением концентрации гемоглобина до $(104,9 \pm 1,3)$ г/л ($p < 0,001$) и эритроцитов до $(3,57 \pm 0,07) \cdot 10^{12}/л$ ($p = 0,002$) было выявлено в 13% случаев, что говорит о достаточно высокой частоте явной анемии при ДСТ у детей. Анемический синдром клинически проявлялся слабостью, головокружением, бледностью кожных покровов и слизистых. Симптомы сидеропении отмечались у 29% детей в виде сухости кожи, ломкости ногтей и волос, извращения вкуса — у отдельных детей. Уровень сывороточного железа у пациентов с анемическим синдромом, ассоциированным с ДСТ (в сравнении с детьми без анемии), составил в среднем $(14,3 \pm 1,12)$ мкмоль/л ($p = 0,02$), общая железосвязывающая способность сыворотки — $(28 \pm 3,14)$ мкмоль/л ($p = 0,17$), коэффициент насыщения трансферрином — $(24,08 \pm 0,9)\%$ ($p = 0,009$). При этом у части детей содержание сывороточного железа было ниже нормативных показателей.

Результаты проведенного специального биохимического исследования крови у пациентов с ДСТ показали повышение активности процессов ПОЛ, что проявлялось достоверным увеличением ($p < 0,001$) содержания диеновых конъюгатов по сравнению с соответствующими показателями в контрольной группе (табл. 1).

Таблица 1

Показатели процессов перекисного окисления липидов и системы антиоксидантной защиты у детей ($X \pm m$)

Показатель	Контроль	ДСТ умеренной степени (1-я группа)	ДСТ выраженной степени (2-я группа)
Диеновые конъюгаты, $A_{233}/мл$	$2,02 \pm 0,1$	$2,68 \pm 0,1$ $p_1 < 0,001$	$3,09 \pm 0,1$ $p_1 < 0,001; p_2 = 0,02$
Малоновый диальде-	$2,41 \pm 0,08$	$2,46 \pm 0,06$	$2,68 \pm 0,1$

гид, мкмоль/л		$p_1 = 0,4$	$p_1 = 0,06; p_2 = 0,1$
Супероксиддисмутаза, усл. ед./мг белка	$0,76 \pm 0,07$	$1,15 \pm 0,05$	$1,34 \pm 0,06$
Каталаза, мкат/мг белка	$3,83 \pm 0,21$	$5,37 \pm 0,3$	$6,40 \pm 0,36$
		$p_1 < 0,001$	$p_1 < 0,001; p_2 = 0,049$
		$p_1 = 0,0013$	$p_1 < 0,001; p_2 = 0,03$

Примечание. Достигнутый уровень значимости различий p_1 — по сравнению с контрольной группой, p_2 — по сравнению с 1-й группой.

Содержание малонового диальдегида в плазме крови достоверно не отличалось от аналогичного показателя в группе здоровых детей, что указывает на дисбаланс в системе ПОЛ, состоящий в увеличении количества промежуточного метаболита ПОЛ при неизменном содержании его конечных продуктов. Возможно, это связано с компенсаторным усилением активности работы антиоксидантной системы организма. Зарегистрировано повышение активности ключевых ферментов антиоксидантной системы у пациентов с ДСТ. Так, активность супероксиддисмутазы в гемолизате эритроцитов увеличивалась более чем в 1,5 раза ($p < 0,001$) по сравнению с аналогичным показателем контрольной группы; активность каталазы возрастала до ($5,37 \pm 0,3$) ($p = 0,0013$) и ($6,4 \pm 0,36$) мкат/мг белка ($p < 0,001$) в группах с ДСТ умеренной и выраженной степени соответственно.

При изучении цитохимических особенностей периферического звена эритрона важная роль отводится тиоловым соединениям и липопротеиновому комплексу. Сульфгидрильные группы играют ключевую роль в поддержании нативной структуры и каталитической активности многих белков, обеспечивают функционирование механизмов антиоксидантной защиты клеток. Липопротеиновый комплекс является основной частью мембраны эритроцита и определяет его структурно-функциональные особенности [5]. Методом микроспектрофотометрии было выявлено, что у детей с ДСТ умеренной и выраженной степени наблюдается снижение концентрации SH-групп до ($0,32 \pm 0,02$) ($p = 0,006$) и ($0,29 \pm 0,01$) усл. ед. ($p < 0,001$) соответственно при ($0,39 \pm 0,02$) усл. ед. в контрольной группе. Содержание суданфильных компонентов мембран эритроцитов в 1-й группе составило ($0,51 \pm 0,0$) усл. ед. ($p = 0,002$), во 2-й группе — ($0,44 \pm 0,02$) усл. ед. ($p < 0,001$). Концентрация липопротеинового комплекса в группе с выраженной степенью ДСТ была достоверно ниже ($p = 0,02$) аналогичных данных в группе с ДСТ умеренной степени. Анализ гистограмм распределения эритроцитов по содержанию данных компонентов показал увеличение доли клеток с низкой концентрацией. Полагают, что уменьшение концентрации липидов в эритроцитах связано с их старением, а появление в периферической крови клеток с низким содержанием тиоловых со-

Результаты исследований молодых ученых и студентов

единений — с поступлением в кровотоки неполноценной продукции [5, 9].

При оценке особенностей поверхностного микрорельефа красных клеток крови у детей с ДСТ установлено, что содержание нормальных дисковидных форм клеток составило ($84,32 \pm 0,19$)% в 1-й группе и ($83,63 \pm 0,24$)% во 2-й группе, что статистически значимо ($p < 0,001$) отличалось от соответствующих величин контрольной группы (табл. 2).

Таблица 2

Морфологическая характеристика популяции эритроцитов у детей ($X \pm m$)

Тип поверхности эритроцитов (на 100 клеток)	Контроль	ДСТ умеренной степени (1-я группа)	ДСТ выраженной степени (2-я группа)
Дискоциты	$88,89 \pm 0,16$	$84,32 \pm 0,19$ $p_1 < 0,001$	$83,63 \pm 0,24$ $p_1 < 0,001; p_2 = 0,03$
Обратимо измененные эритроциты	$9,37 \pm 0,17$	$12,72 \pm 0,10$ $p_1 < 0,001$	$13,07 \pm 0,13$ $p_1 < 0,001; p_2 = 0,048$
Необратимо измененные эритроциты	$1,54 \pm 0,08$	$2,56 \pm 0,08$ $p_1 < 0,001$	$2,82 \pm 0,12$ $p_1 < 0,001; p_2 = 0,07$
Дегенеративные формы	$0,20 \pm 0,04$	$0,40 \pm 0,04$ $p_1 = 0,006$	$0,48 \pm 0,03$ $p_1 < 0,001; p_2 = 0,14$

Примечание. Достигнутый уровень значимости различий p_1 — по сравнению с контрольной группой, p_2 — по сравнению с 1-й группой.

Отмечено достоверное ($p < 0,001$) увеличение содержания как переходных, способных к обратной трансформации (эллипсовидные, плоские диски, дискоциты с гребнем, с одним выростом, множественными выростами, в форме тутовой ягоды), так и непереходных (куполообразные, сферические, в виде спущенного мяча) форм эритроцитов у школьников основной группы по сравнению с аналогичными показателями группы контроля. Число дегенеративных форм эритроцитов у детей с умеренной степенью ДСТ достигало ($0,4 \pm 0,04$)% ($p = 0,006$), с выраженной степенью — $0,48 \pm 0,03$ % ($p < 0,001$), что более чем в 2 раза выше таковых в контрольной группе. Следовательно, у детей с ДСТ имеют место нарушения поверхностного микрорельефа мембран эритроцитов периферической крови, приводящие к сокращению продолжительности жизненного цикла клеток с возможным более легким развитием анемического синдрома.

Заключение

Таким образом, наличие ДСТ у детей сопровождается нарушениями структурно-метаболического статуса эритроцитов независимо от количественных показателей красной крови и приводит в 13% случаев к возникновению анемии. Характерной особенностью нарушений периферического

звена эритрона при ДСТ у детей является снижение концентрации тиоловых групп и липопротеинового комплекса, изменение поверхностной цитоархитектоники красных клеток крови. Полученные данные позволяют предположить, что патогенетический механизм развития анемии при ДСТ у детей сложен и обусловлен не только дефицитом железа, но и интенсификацией процессов ПОЛ с дестабилизирующим влиянием на мембраны эритроцитов. Поступление в кровь качественно неполноценных красных клеток приводит к несовершенству функционирования эритроцитов как биологической системы.

Литература

1. Владимиров Ю.А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов // Патол. физиология и эксперим. терапия. 1989. № 4. С. 7—12.
2. Владимиров Ю.А., Арчаков А.К. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 226 с.
3. Гапузов В.В. Определение оксипролина в суточной моче // Лаб. дело. 1990. № 10. С. 43—44.
4. Кадурина Т.И. Наследственные коллагенопатии: клиника, диагностика, лечение, диспансеризация. СПб.: Невский диалект, 2000. 271 с.
5. Козинец Г.И., Котельников В.М., Гольдберг В.Е. Цитофотометрия гемопозитических клеток. Томск: Изд-во Том. ун-та, 1986. 222 с.
6. Королюк М.А., Иванова Л.И. Определение активности
7. каталазы в сыворотке крови // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16—18.
8. Милковска-Димитрова Т. Врожденная соединительнотканная малостойкость у децата. София: Медицина и физкультура, 1987. 189 с.
9. Нечаева Г.И., Охрименко А.А., Вершинина М.В. Антиоксидант мексидол в патогенетической терапии дисплазии соединительной ткани // Материалы 1-й Всерос. науч.-практ. конф. «Актуальные вопросы внутренней патологии. Дисплазия соединительной ткани». Омский науч. вест. № 5. Вып. 32. Омск, 2005. С. 100—103.
10. Погорелов В.М., Козинец Г.И. Диагностическая значимость морфологических особенностей эритроцитов в мазках периферической крови // Гематология и трансфузиология. 2005. Т. 50. № 5. С. 13—17.
11. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (функциональная морфология и общая патология). М.: Медицина, 1981. 312 с.
12. Стуров В.Г., Чупрова А.В., Антонов А.Р. Геморрагические дисфибриногемии и другие нарушения эффективности конечного этапа свертывания крови у детей с синдромом системной мезенхимальной дисплазии // Педиатрия. 2005. № 3. С. 11—17.
13. Суханова Г.А., Баркаган З.С., Буевич Е.И., Константинова В.Н. Новые варианты сочетания гипоконвертинемии с мезенхимальными дисплазиями // Гематология и трансфузиология. 2004. Т. 49. № 1. С. 26—29.
14. Суханова Г.А., Баркаган З.С., Котовщикова Е.Ф. и др. Тромботические мезенхимальные дисплазии и их связь с другими тромбофилиями // Гематология и трансфузиология. 2003. Т. 48. № 6. С. 13—14.
15. Терещенко Л.Г. Структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов при дисплазии соединительной ткани: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 1994. 22 с.
16. Чупрова А.В., Антонов А.Р., Стуров В.Г. Нарушение системы гемостаза и особенности обмена эссенциальных биометаллов при геморрагических мезенхимальных дисплазиях у детей // Педиатрия. 2002. № 6. С. 15—21.
17. Шиляев Р.Р., Шальнова С.Н. Дисплазия соединительной ткани и ее связь с патологией внутренних органов у детей и взрослых // Вопр. совр. педиатрии. 2003. Т. 2. № 5. С. 61—67.
18. Яковлев В.М., Карпов Р.С., Бакулина Е.Г. Соединительнотканная дисплазия костной ткани. Томск: СТТ, 2004. 104 с.
19. Яковлева А.А. Гипермобильный синдром // Мед. газета. 2000. № 14. С. 8—9.
20. Engelbert R.H., Bank R.A., Sakkars R.J. et al. Pediatric generalized joint hypermobility with and without musculoskeletal complaints: a localized or systemic disorder? // Pediatrics. 2003. V. 111. № 3. P. 248—254.
21. Roch E., Gueux E., Mazur A. et al. Anemia in copper-deficient rats: role of alternations in erythrocyte membrane fluidity and oxidative damage // Am. J. Physiol. 1995. V. 269. P. 1245—1249.
22. Russek L. Examination and treatment of a patient with hypermobility syndrome // Phys. Ther. 2000. № 4. P. 386—398.

Поступила в редакцию 26.09.2007 г.