

КРАТКИЕ НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.117.7+616.155.392

*В. Б. Матюшичев, В. Г. Шамратова***ЭЛЕКТРОКИНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ЭРИТРОЦИТАРНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОРГАНИЗМА**

Информация об электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) — показателе, косвенно определяющем поведение этих клеток в сосудистом русле, их деформируемость, агрегатную устойчивость, реологические характеристики крови и интенсивность микроциркуляции в капиллярах [10], представляет большой научный и клинический интерес. В силу своей высокой стабильности и исключительной важности для жизнедеятельности организма этот параметр способен стать чувствительным и объективным индикатором микроизменений в состоянии эритроцитов и окружающей их плазмы при тех или иных заболеваниях [6]. В свою очередь, сведения о поведении ЭФПЭ при патологических нарушениях могут быть использованы для уточнения и детализации отдельных звеньев контроля электрокинетических свойств эритроцитов. Поскольку механизмы регуляции ЭФПЭ до сих пор окончательно не выяснены, в настоящей работе мы изучали поведение ЭФПЭ в норме и при ряде патологических состояний.

Материал и методы исследования. Обследовали больных хроническим пиелонефритом ($n=27$), хроническим гломерулонефритом ($n=24$), хронической почечной недостаточностью ($n=13$), железодефицитной анемией ($n=40$), артериальной гипертензией ($n=20$), язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки ($n=12$), раком желудка ($n=22$) и кишечника ($n=26$). Контрольную группу составили 49 клинически здоровых лиц. Половой и возрастной состав групп в данном случае не имел значения, поскольку в отношении этих характеристик изменения ЭФПЭ неспецифичны [6]. В периферической крови обследуемых на гематологическом анализаторе «Coulter» (Франция) определяли концентрацию эритроцитов и ретикулоцитов, среднюю концентрацию и среднее содержание гемоглобина (Hb) в эритроците, лейкоцитарную формулу крови. Для измерения ЭФПЭ 0,02 мл крови разбавляли (1:200) 0,1 моль/л фосфатным буфером, pH 7,4. Измерения проводили при 25 °C на микроскопической установке «Пармоквант-2» в автоматическом режиме. По результатам сканирования перемещений клеток при микроэлектрофорезе на базе 300 показаний индивидуальной подвижности эритроцитов в каждой из анализируемых проб производили расчеты средних ЭФПЭ (М и Me), а также коэффициентов As и Ex распределения ЭФПЭ для отдельных проб и в целом по группам. Обработку данных по схемам корреляционного и факторного анализа выполняли с использованием пакета программ Statistica.

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты показали, что реакция ЭФПЭ на различные патологические процессы в целом достаточно однообразна и выражается главным образом в некотором снижении средней величины признака. Достоверное ее уменьшение отмечено при артериальной гипертензии (на 3,1 %), хроническом гломерулонефрите (3,8 %), язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (3,2 %), раке прямой кишки (3,0 %). В то же время при хроническом пиелонефрите и ЖДА ЭФПЭ практически не отличалась от уровня нормы, а при раке желудка — даже повышалась (на 2,4 %).

Столь незначительные сдвиги, казалось бы, не заслуживают внимания. Однако это не так, поскольку ЭФПЭ относится к числу наиболее жестких констант внутренней среды организма, в силу чего даже такие непривычно малые отклонения могут иметь существенные физиологические последствия. Тем не менее отсутствие значительных изменений средней величины ЭФПЭ наводят на мысль о том, что отмеченные патологические процессы не затрагивают мембранные функции эритроцитов. Но это представляется маловероятным в силу неизбежно возникающих при патологии изменений во внутренней среде организма, априори отражающихся и на свойствах мембран. Поиск рационального объяснения противоречивости подобной ситуации приводит к заключению о необходимости использования иных критериев в оценке поведения ЭФПЭ при патологии. По-видимому, валовый подход с учетом только усредненного показателя ЭФПЭ нивелирует качественные сдвиги, происходящие в отдельных субпопуляциях клеток, и поэтому не позволяет судить о реальном состоянии электрокинетических параметров эритроцитарных популяций у больных.

С учетом этого мы сопоставили распределения субпопуляций по критическим интервалам варьирования A_s эритрограмм [5]. При такой дифференциации в «нейтральный» класс общего диапазона значений попадают субпопуляции, по своей абсолютной величине отличающиеся от нуля недостоверно, в «положительный» интервал — с положительной асимметрией (по сравнению с нормальным распределением в популяции больше клеток с пониженной подвижностью) и в «отрицательный» — с отрицательной (соответственно здесь существенней представлена доля эритроцитов с ЭФП, превышающей ее среднюю величину).

Анализ приведенных в табл. 1 данных показывает, что при ряде заболеваний на фоне незначительного изменения средних величин показателя заметно преобразуется структура популяции. В частности, встречаемость субпопуляций 1-го типа при онкопатологии уменьшается более чем в 2 раза, а при хроническом гломерулонефрите — практически в 7 раз. Одновременно отмечается тенденция к увеличению доли клеток с пониженным электрокинетическим потенциалом (положительная A_s). У больных железодефицитной анемией, напротив, значительно увеличивается доля клеток с повышенной подвижностью в электрическом поле (отрицательная A_s).

Таблица 1

Частота встречаемости отдельных типов распределения ЭФПЭ в норме и при патологии, $p \pm n\%$

Группа обследуемых	n	Интервал варьирования A_s		
		1	2	3
Контроль	49	29,2 ± 6,5	48,2 ± 7,1	22,5 ± 5,9
Хронический пиелонефрит	27	33,3 ± 9,1	37,0 ± 9,3	29,7 ± 8,8
Хронический гломерулонефрит	24	4,2 ± 4,1*	58,3 ± 10,1	37,5 ± 9,9
Хроническая почечная недостаточность	13	46,1 ± 13,8	46,1 ± 13,8	7,7 ± 7,3*
Железодефицитная анемия	40	60,0 ± 7,7*	22,5 ± 6,6*	17,5 ± 6,0
Артериальная гипертензия	20	35,0 ± 10,6	50,0 ± 11,2	15,0 ± 8,0
Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки	12	25,0 ± 12,5	33,3 ± 13,6	41,6 ± 14,2
Рак желудка	22	18,2 ± 8,2	45,5 ± 10,6	36,3 ± 10,3
Рак кишечника	26	11,0 ± 6,1*	50,0 ± 9,8	39,0 ± 9,6

Примечание. 1 — «отрицательный» интервал, 2 — «нейтральный», 3 — «положительный»; * — достоверное отличие от контроля, $p \leq 0,05$.

При большинстве изученных нами патологических состояний наблюдается значительный рост качественной гетерогенности популяции клеток (уменьшение коэффициентов E_x) и усиление «электрокинетического» анизозитоза (расширение гистограмм распределения признака). Аналогичные изменения отмечали и другие авторы: появление двувёршинных кривых зафиксировано при параксизмальной ночной гемоглобинурии [4,13], системных заболеваниях соединительной ткани, патологии желудочно-кишечного тракта [11]. Полагают, что увеличение дисперсии ЭФПЭ можно рассматривать как результат различной чувствительности отдельных клеток популяции к внешним воздействиям [8]. Очевидно, такая реакция отражает общебиологическую

закономерность, согласно которой биологические системы разного уровня интеграции устойчивы при достаточно высоком внутреннем разнообразии [3].

При ЖДА, так же как и в отношении As распределения, отмечается противоположное явление — единообразие клеток красной крови по ЭФП увеличивается. По всей видимости, в этом случае происходит усиление процесса элиминации низкоустойчивых клеток по мере активизации эритропоэза и поступления в сосудистое русло новых порций молодых, не прошедших полный путь развития эритроцитов [12].

Для уточнения механизмов, лежащих в основе наблюдаемой динамики эритроцитарных популяций при патологии, с помощью факторного анализа нами прослежены взаимосвязи параметров ЭФП с комплексом показателей, отражающих особенности клеточного состава красной и белой крови в норме, а также для случаев артериальной гипертензии и нефропатологии. Полученные результаты частично представлены в табл. 2. Как следует из таблицы, в норме за состояние электрокинетического гомеостаза отвечают, видимо, факторы F₁ и F₃. Первый фактор, в структуру которого с высокими положительными нагрузками вошли общая концентрация гемоглобина в крови и среднее содержание этого пигмента в отдельном эритроците, очевидно, можно было бы интерпретировать как фактор функциональной ценности эритроците, очевидно, можно было бы интерпретировать как фактор функциональной ценности эритроцитов, поскольку с гемоглобином связана основная физиологическая функция эритроцитов — транспорт дыхательных газов. Однако такой трактовке противоречит отрицательная корреляция с фактором средней ЭФП, подтверждающая данные [7] о том, что чрезмерная гемоглобинизация эритроцитов ухудшает их реологические свойства. Действительно, глубинная структура фактора такова, что чем выше концентрация гемоглобина в крови и в отдельных эритроцитах, тем более ослаблена соответствующая функция организма. По всей видимости, этот фактор отражает в первую очередь динамическое равновесие в популяции между клетками с оптимальными реологическими свойствами (высокий электрокинетический потенциал) и слабой кислородтранспортной функцией (низкая концентрация гемоглобина), и наоборот.

Таблица 2

Факторные нагрузки показателей крови человека в норме и при артериальной гипертензии

Признаки		Норма				Артериальная гипертензия			
		F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
ЭФП	M	-0,69*	-0,05	-0,10	-0,21	0,03	0,45	-0,69*	-0,01
	Me	-0,48	0,37	0,55	-0,20	0,85*	-0,15	0,22	0,17
	As	0,01	0,41	0,69*	-0,05	-0,26	0,13	0,70*	-0,31
	Ex	0,46	-0,14	-0,61*	0,15	-0,62*	-0,39	0,19	-0,42
	SD	0,45	0,09	0,67*	0,11	-0,45	-0,47	-0,05	0,18
Концентрация Hb		0,81*	0,41	-0,01	-0,06	-0,36	-0,25	0,62*	0,03
Содержание Hb в эритроците		0,76*	0,01	0,03	-0,22	-0,33	-0,26	0,60*	0,05
Ретикулоциты		-0,37	0,02	0,31	-0,25	-0,36	0,28	0,30	0,66*
Эритроциты		0,57	0,52	-0,02	0,12	-0,71*	-0,23	0,19	-0,11
Лейкоциты		0,35	-0,33	0,02	-0,52	-0,63*	-0,10	0,12	0,01
Сегментоядерные нейтрофилы		0,28	-0,85*	0,20	-0,04	-0,47	0,74*	0,24	0,38
Палочкоядерные нейтрофилы		0,29	0,12	-0,12	-0,82*	0,66*	-0,54	0,22	0,12
Лимфоциты		-0,30	0,77*	-0,23	0,08	-0,08	-0,32	-0,27	-0,51
Моноциты		-0,24	0,75*	-0,27	0,06	0,10	-0,46	0,66*	-0,10
Эозинофилы		-0,28	-0,38	0,26	0,49	0,77*	-0,38	0,26	0,28
Доля дисперсии, %		23	21	15	11	26	19	18	11

* Достоверная корреляция признака с фактором, $p \leq 0,05$.

Существенно, что отмеченный характер взаимоотношений между этими важнейшими параметрами красной крови у здоровых людей определяется возрастной структурой периферического звена эритрона. Молодые эритроциты обладают повышенным зарядом [12] и пониженной внутриклеточной концентрацией гемоглобина [7]. По мере старения эритроцитов в них увеличивается концентрация Hb, снижается электрокинетический потенциал клеток, их деформируемость [14] и соответственно возрастает способность к агрегации. Как показывает анализ корреляций, на уровне общей совокупности это выражается в повышении концентрации Hb с уменьшением доли субпопуляций клеток с высокой подвижностью.

Фактор F_3 в факторной структуре показателей здоровых людей (см. табл. 2) — это, видимо, фактор поддержания устойчивости среднего уровня ЭФПЭ путем перераспределения клеток в совокупности. Сохранение относительной стабильности ЭФПЭ достигается за счет изменения баланса субпопуляций с разными электрокинетическими свойствами (колебания A_s) и варьирования степени гетерогенности популяции. При этом с указанным фактором достоверно коррелирует как возрастание «электрокинетического» анизозитоза (увеличение SD), так и общей неоднородности качественного состава клеток (уменьшение E_x).

Заметные изменения в динамике интегральных гомеостатических факторов происходят при артериальной гипертензии (см. табл. 2). Здесь удельный вес фактора, координирующего взаимоотношения микрореологических и кислородтранспортных параметров эритроцитов, существенно снижается. При этом отмечается ослабление влияния на него функции газообмена (средняя концентрация Hb и среднее содержание Hb в отдельном эритроците) на фоне сохранения доли вклада реологической составляющей (средняя ЭФПЭ). Более того фактор дополняется параметром, описывающим форму гистограмм (A_s распределения), что свидетельствует о подключении к контролю подвижности клеток механизма перераспределения эритроцитов с разными электрокинетическими свойствами, а также содержанием моноцитов.

При артериальной гипертензии место первого, наиболее емкого фактора, занял фактор реологической устойчивости крови (см. табл. 2). Наряду с медианой ЭФПЭ с ним отрицательно связан коэффициент E_x распределения эритроцитов по ЭФП. В этом случае рост гетерогенности популяции эритроцитов можно рассматривать как адаптивную реакцию, направленную на поддержание оптимального состояния функциональной системы. В то же время, судя по структуре фактора, на суспензионной устойчивости крови негативно сказывается возрастание концентрации циркулирующих клеток крови, причем не только эритроцитов, но и лейкоцитов. Кроме того, на состояние этой функции влияет активность лейкопоза (содержание палочкоядерных лейкоцитов) и содержание в крови эозинофилов. У обследуемых имело место достоверное повышение в крови уровня палочкоядерных лейкоцитов, эозинофилов и моноцитов, т. е. концентрации тех клеточных элементов, которые согласно факторным структурам при артериальной гипертензии активно вмешиваются в регуляцию электрокинетических параметров эритроцитов.

Очевидно, при артериальной гипертензии физиологические механизмы обеспечения биоэлектрического гомеостаза испытывают определенное напряжение. Об этом свидетельствует как незначительное снижение средней величины ЭФПЭ (на 3,1 %) и возрастание роли факторов, контролирующих электрокинетические свойства эритроцитов, так и усиление регуляторных влияний со стороны других звеньев системы крови. Такое преобразование становится понятным, если принять во внимание, что состояние кровотока в системе микроциркуляции определяется не только микрореологическими свойствами клеток крови, но и диаметром сосудов. В этой связи при артериальной гипертензии, при которой реактивность сосудов может нарушаться, роль агрегатной устойчивости эритроцитов — преобладающих по численности клеток крови — значительно возрастает. При этом гемоконцентрация за счет клеток не только красной, но и белой крови способна оказывать, как следует из особенностей факторной структуры, отрицательное влияние на реологические свойства эритроцитов и состояние этой функции организма в целом.

Проверить участие системы крови в регуляции ЭФПЭ удалось и при нефропатологии. Выяснилось, что при хроническом пиелонефрите, характеризующемся относительной стабильностью электрокинетических свойств эритроцитов, факторные структуры, ответственные за регуляцию подвижности клеток в электрическом поле, описываются теми же скрытыми переменными,

что и в норме. В частности, наиболее значимый фактор (34 и 28 % общей дисперсии соответственно) в обоих случаях представлен средними величинами ЭФПЭ—М и Ме распределения—и отрицательно взаимосвязанными с фактором вариациями As, демонстрирующими, что контроль оптимального уровня ЭФПЭ обеспечивается путем перераспределения в общем пуле долей субпопуляций клеток с разной подвижностью в электрическом поле.

Судя по включению в структуру фактора показателя палочкоядерных лейкоцитов, при пиелонефрите на функционирование этого механизма оказывает влияние активность лейкопоза. При гломерулонефрите к контролю ЭФПЭ причастны два интерпретируемых независимых фактора: F_1 (29 % общей дисперсии), объединяющий М и Ме, и F_2 (19 % дисперсии), ассоциированный с As распределения и содержанием палочкоядерных лейкоцитов. Таким образом, здесь средний уровень ЭФПЭ, по-видимому, также зависит не только от баланса отдельных субпопуляций эритроцитов. Примечательно, что вклад палочкоядерных лейкоцитов в поведение ЭФПЭ ощутим при обеих формах патологии почек, причем их количество в периферической крови больных возрастает более чем вдвое. Однако при гломерулонефрите, судя по структуре факторов и соотношению субпопуляций эритроцитов в крови больных, корректирующее влияние лейкоцитарного звена крови на функционирование механизма перераспределения более заметно.

Перераспределение эритроцитов при ЖДА в сторону накопления субпопуляций с повышенным электрокинетическим потенциалом связано, вероятно, с «омоложением» циркулирующей крови [12] за счет массивного притока в нее эритроцитов из красного костного мозга. Сходные тенденции обнаруживаются у больных с хронической почечной недостаточностью, у которых наблюдается резкое увеличение средней по группе As распределения и достоверное уменьшение доли клеток с низким уровнем ЭФПЭ. По всей видимости, и здесь можно говорить об участии процессов эритропоза в механизмах перераспределения эритроцитов по ЭФП в сосудистом русле, тем более что это заболевание сопровождается выраженной анемией, сочетающейся с микроэритроцитозом [1,9], а в факторной структуре отчетливо прослеживается связь между характером распределения эритроцитов по ЭФПЭ (As распределения) и содержанием в крови Hb. При хронической почечной недостаточности 18 % общей дисперсии приходится на долю фактора, определяющего перераспределение эритроцитов при уменьшении концентрации в крови Hb. Подобное поведение субпопуляций эритроцитов с различными электрокинетическими свойствами предотвращает возможные значительные сдвиги среднего уровня ЭФПЭ. Они отсутствуют и при ЖДА, и при такой тяжелой патологии, как хроническая почечная недостаточность.

Итак, при патологии, несмотря на воздействия, сдвигающие равновесие внутренней среды организма, средняя ЭФПЭ в целом поддерживается на уровне, близком к физиологическому. Изучение факторных структур, причастных к регуляции электрокинетических свойств эритроцитов, показало, что в норме характеристики ЭФПЭ варьируют относительно независимо от других параметров крови, и контроль электрокинетических свойств эритроцитов осуществляется преимущественно за счет механизма перераспределения клеток внутри популяции. При патологии к нему могут подключаться новые регуляторные звенья. Иначе говоря, при недостаточной эффективности контроля взаимоотношений внутри функциональной системы «собственными средствами» он дополняется вспомогательным влиянием «внешних» по отношению к эритроцитам элементов системы крови. Их характер и доля участия в оптимизации уровня ЭФПЭ, по-видимому, могут значительно различаться в зависимости от особенностей патологических состояний.

Summary

Matyushichev V. B., Shamratova V. G. Electrokinetic structure of erythrocyte populations and functional status of organism.

The processes responsible for the maintenance of optimum electrokinetic properties of human blood erythrocytes at a norm and under pathology was studied. It was shown that the average level of erythrocyte mobility in an electric field became stable mainly at the sacrifice of redistribution of cell subpopulations with different electrokinetic properties in the red blood system. Under arterial hypertension and kidney diseases other regulatory links in particular the elements of leukocytes component of blood are attached to this mechanism.

Литература

1. Ахеледиани М. В., Мартиашвили М. В., Шарашидзе Н. А., Чохонелидзе И. Т. Наш опыт изучения метаболизма железа у больных, находящихся на гемодиализе до и после лечения ре-кормоном // Клин. лаб. диагностика. 2000. № 10. С. 28–29.
2. Дунаева А. П., Шабунина Е. И., Козинец Г. И., Борзова Л. В. Поверхностный заряд эритроцитов при хроническом гепатите у детей // Лаб. дело. 1991. № 11. С. 31–33.
3. Емельянов И. Г. Разнообразие и устойчивость биосистем // Усп. совр. биол. 1994. № 3. С. 304–318.
4. Козинец Г. И., Борзова Л. В., Ковнер В. С. Исследование эритроцитов крови методом препаративного электрофореза // Лаб. дело. 1981. № 9. С. 529–532.
5. Матюшичев В. Б., Шамратова В. Г., Ахунова А. Р. Влияние строфантина на электрофоретическую подвижность эритроцитов крови взрослых и детей // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2001. № 2. С. 248–253.
6. Мирошников А. И., Фомченков В. М., Иванов А. Ю. Электрофизический анализ и разделение клеток. М., 1986.
7. Муравьев А. В., Зайцев Л. Г., Муравьев А. А., Замышляев А. В. Микрореологические свойства разных популяций эритроцитов у людей с повышенным артериальным давлением и у физически активных лиц // Физиол. человека. 2000. Т. 26. № 4. С. 101–105.
8. Сигал В. Л., Осадчий П. В., Лунько А. А. Дисперсия электрофоретической подвижности эритроцитов хранимой донорской крови // Гематол. и переливание крови. 1984. № 35. С. 27–30.
9. Степовая Е. А., Гольдберг В. Е., Новицкий В. В. Поверхностная архитектура эритроцитов периферической крови у больных раком легкого // Лаб. дело. 1991. № 6. С. 29–32.
10. Чижевский А. Л. Биофизические механизмы реакции оседания эритроцитов. Новосибирск, 1980.
11. Шангин А. Б., Шостак В. И. Особенности сопряжения дыхания и кровообращения у лиц молодого возраста при психоэмоциональном напряжении, вызванном экзаменационной сессией // Физиол. человека. 1992. Т. 18. № 1. С. 117–122.
12. Chan L., Chan A., Waye J. Should we screen for globin gene mutation in bloods samples with mean corpuscular volume greater than 80 fl in areas with a high prevalence of thalassemia // J. Clin. Pathol. 2001. Vol. 54. N 4. P. 317–320.
13. Hashimoto N., Fujita S., Yokoyama T. Cell electrophoretic mobility and glycerol lysis of human erythrocytes in various diseases // Electrophoresis. 1998. Vol. 19. N 7. P. 1227–1230.
14. Wangh R., Naria M., Jackson C. Rheologic properties of senescent erythrocytes: loss of surface area and volume with red blood cell age // Blood. 1992. Vol. 79. P. 1351–1362.

Статья принята к печати 15 мая 2007 г.