

В. Б. Матюшичев, В. Г. Шамратова

ФАКТОРЫ КОНТРОЛЯ ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЙ ПОДВИЖНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

Электрофоретическая подвижность эритроцитов (ЭФПЭ) – показатель, производный от физико-химических свойств и архитектоники мембран этих клеток – давно привлекает внимание исследователей, поскольку от него косвенно зависят реологические характеристики крови и процессы микроциркуляции в тканях организма [10]. Однако механизмы контроля ЭФПЭ до сих пор детально не изучены. Прогрессу в этой области, по-видимому, способствовали бы наблюдения за ЭФПЭ в ситуациях, сопряженных с изменением ее уровня. Такому условию, очевидно, вполне отвечает анализ поведения ЭФПЭ в норме и при различных патологических нарушениях. В этой связи в настоящей работе изучалось электрокинетические свойства эритроцитов у здоровых и больных людей – с целью выявления факторов, причастных к их регуляции.

Материал и методика. Обследовали больных хроническим пиелонефритом ($n=27$), хроническим гломерулонефритом ($n=24$), артериальной гипертензией ($n=20$), язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки ($n=12$), раком желудка ($n=22$), больных с травмой опорно-двигательного аппарата ($n=15$) – в возрасте 17–55 лет. Больные железодефицитной анемией ($n=54$) были представлены детьми 4–13 лет и взрослыми 30–50 лет. Контрольные группы составили 156 клинически здоровых лиц. Для определения величины ЭФПЭ 0.02 мл периферической крови разбавляли (1:200) 0.1 моль/л фосфатным буфером, pH 7.4. Измерения проводили при 25 °C на микроскопической установке «Рагмоquant-2» (Германия) в автоматическом режиме. Характеристики кислотно-основного состояния крови (КОС) и газового режима определяли на автоматическом анализаторе «AVL Compact-1» (Австрия). Учитывали pH крови, дефицит буферных оснований (BE), напряжение углекислого газа ($p\text{CO}_2$) и кислорода ($p\text{O}_2$), степень насыщения гемоглобина кислородом (HbO_2). По результатам сканирования перемещений клеток при микроэлектрофорезе на базе выдаваемых прибором гистограмм – 300 показаний индивидуальной подвижности эритроцитов в каждой из анализируемых проб – производили расчеты средних ЭФПЭ (M и Me), а также коэффициентов асимметрии (As) и эксцесса (Ex) распределения ЭФПЭ – для отдельных проб и в целом по группам. Корреляционный и факторный анализ проводили с использованием пакета программ Statistica.

Результаты и обсуждение. Влияние чрезвычайных воздействий на состояние эритроцитарной популяции изучено нами на примере групп больных, перенесших операцию. Операционная травма сама по себе создает для организма экстремальную ситуацию, на которую накладывается фон существенного фармакологического вмешательства и нервно-психического напряжения у больного перед операцией. Сравнение средних величин ЭФПЭ после операций по поводу язвенной болезни и рака желудка показало их достоверное снижение. Аналогичные изменения наблюдаются и у оперированных больных, перенесших тяжелую травму опорно-двигательного аппарата. Указания на подобную реакцию организма на травму приводились в литературе и ранее [2].

В экстремальных условиях происходят также изменения параметров формы распределения эритроцитов по электрофоретической подвижности (ЭФП). Подобные сдвиги в целом свойственны всем рассмотренным вариантам тяжелой патологии. Но если у больных до операции значительный рост гетерогенности популяции эритроцитов по их ЭФП в какой-то мере сдерживает резкое изменение суммарного (среднего) электрокинетического

потенциала совокупности клеток, то здесь подобный механизм контроля ЭФПЭ, видимо, малоэффективен.

Вполне возможно, что в экстремальных ситуациях начинают превалировать влияния локальных особенностей клеточного окружения, т.е. плазмы крови. Это отчетливо демонстрируют результаты факторного анализа показателей крови больных язвенной болезнью до и после оперативного лечения. Данный прецизионный метод основан на учете системы корреляций между признаками и позволяет не просто выявить все имеющиеся в системе связи, но и с помощью выделения так называемых факторов (реальных, но скрытых переменных более высокого порядка, чем изучаемые параметры) установить, что стоит за такими связями и управляет согласованной изменчивостью исходных показателей. При этом факторные нагрузки на конкретные показатели представляют собой коэффициенты корреляции изучаемых признаков с выделенными факторами. Интерпретация структуры сформированных матриц строится с учетом величины и знака достоверных факторных нагрузок [8].

Факторный анализ показал, что после операции в контроле ЭФПЭ активно участвуют параметры КОС крови. В снижение среднего уровня ЭФПЭ (на 6.6%) вследствие травматического шока и перенесенной операции определен вклад, по-видимому, вносит резкая, более чем двукратная активизация окислительных процессов в эритроцитарных мембранах. Однако обнаруженные нарушения биоэлектрического равновесия носят временный характер и после устранения последствий влияния плазменных, мембранотропных, психоэмоциональных, травматических и других факторов механизм саморегуляции ЭФПЭ восстанавливается.

С целью выявления половых и онтогенетических особенностей поведения ЭФПЭ мы обследовали группу молодых людей с артериальной гипертензией и больных с почечной патологией. Оказалось, что обнаруженное при артериальной гипертензии снижение средней величины ЭФПЭ характерно только для женщин, тогда как у мужчин она сохраняется на уровне, близком к контрольному для лиц той же возрастной группы. При этом нивелируются половые различия структуры клеточной популяции, обнаруженные нами в норме. Судя по изменению A_s гистограммы ЭПФЭ, причина этого кроется в существенном уменьшении у женщин доли клеток с повышенным электрокинетическим потенциалом. Исходя из предположения, что артериальная гипертензия обусловлена генетическим системным дефектом клеточных мембран [9], в том числе и эритроцитарных, можно допустить наличие каких-то специфических особенностей в развитии «мембранной» патологии у мужчин и женщин. Известно, что у лиц с повышенным артериальным давлением активность в эритроцитарных мембранах натриевого насоса, генерирующего трансмембранный потенциал, в определенной степени зависит и от возраста, и от пола [11].

Эти предположения согласуются с обнаруженным нами фактом ослабления при артериальной гипертензии связи между изменением ЭФПЭ и концентрацией гемоглобина [3], отражающей у женщин адаптивные реакции ЭФПЭ в ответ на ухудшение кислород-транспортной функции крови. Поскольку такие компенсаторные реакции опосредованы, видимо, через регуляцию мембран-зависимого транспорта катионов [12], можно полагать, что нарушение функционирования ионотранспортных систем влияет при «мембранной» патологии на ослабление или даже утрату регуляторного контроля ЭФПЭ со стороны гемоглобина.

При хроническом пиелонефрите существенных отличий средних ЭФПЭ у больных мужчин и женщин, как и у здоровых людей этого возраста, не наблюдается. Но, как и в случае артериальной гипертензии, здесь практически не выражены (недостоверны) половые различия в соотношении различных субпопуляций эритроцитов по их ЭФП (табл. 1).

Таблица 1. Среднегрупповые значения As и Ex распределения ЭФПЭ у мужчин и женщин при артериальной гипертензии и почечной патологии

Группа		Пол	n	As±m _{As}	Ex±m _{Ex}
Гипертензия	контроль	мужской	22	-0.11±0.04	-0.10±0.08
		женский	28	-0.25±0.04*	-0.06±0.08
	гипертензия	мужской	10	-0.04±0.06	-0.17±0.12
		женский	10	-0.07±0.06**	-0.05±0.12
Нефропатология	пиелонефрит	мужской	13	-0.11±0.05	-0.13±0.11
		женский	14	-0.13±0.05	-0.20±0.11*
	гломерулонефрит	мужской	13	0.09±0.05	-0.11±0.11
		женский	11	-0.06±0.06*	-0.31±0.12

* Достоверное отличие по полу;

** достоверное отличие от контроля ($p \leq 0.05$).

Что касается гетерогенности популяции эритроцитов по ЭФП, то в отличие от нормы очевиден факт более высокой качественной разнородности ЭФПЭ у женщин по сравнению с мужчинами (Ex). При гломерулонефрите, напротив, баланс отдельных субпопуляций эритроцитов в крови у представителей разного пола в общих чертах характеризуется теми же особенностями, что и у взрослых здоровых людей, т. е. у женщин более заметно преобладание доли клеток с повышенной ЭФП.

В табл. 2 представлено соотношение частоты встречаемости различных типов форм распределения ЭФПЭ у детей 4–13 лет, больных железодефицитной анемией (ЖДА). Отраженная в таблице структура эритроцитарной популяции сохраняет принципиально те же онтогенетические и половые особенности, что и у здоровых детей того же пола и возраста. Анализ среднегрупповых значений As и Ex (см. табл. 2) показывает, что у больных девочек возрастные отличия Ex выражены сильнее, чем у здоровых детей, причем так же,

Таблица 2. Параметры распределения ЭФПЭ у детей, больных ЖДА

Группа	Возраст	Интервал варьирования As, p±m _p			As±m _{As}	Ex±m _{Ex}
		< -0.20	-0.20 – +0.20	> +0.20		
Мальчики	4–6 лет (n=10)	75±13.7	12.5±10.5	12.5±10.5	-0.51±0.06	1.76±0.12
Девочки	» (n=10)	33.3±4.9*	50.0±5.8*	16.7±11.8	-0.33±0.06*	1.51±0.12
Мальчики	7–13 лет (n=8)	50.0±17.7	33.3±16.7	16.7±13.2	-0.28±0.07**	0.82±0.14**
Девочки	» (n=6)	40.0±20.0	40.0±20.0	20.0±16.3	-0.29±0.08	0.77±0.16**

* Достоверное отличие по полу;

** достоверное отличие по возрасту; $p \leq 0.05$.

как и в группе больных женщин, имеет место тенденция к уменьшению при патологии степени однородности клеток в популяции по их электрокинетическому потенциалу.

Таким образом, возрастная динамика и половая специфика могут проявляться не только у здоровых, но и у больных людей. При некоторых заболеваниях структура эритроцитарной популяции сохраняет те же особенности по полу, а у детей – и по возрасту, что и в дифференцированных по этим признакам группах здоровых людей. В других случаях происходит нивелирование свойственных норме половых различий как среднего уровня ЭФПЭ, так и структуры клеточной популяции. Однако при этом половая специфика может выражаться в различиях степени и характера реагирования ЭФПЭ на патологический процесс.

Проведенное исследование ЭФП эритроцитов позволило обнаружить некоторые закономерности, частично проясняющие общие механизмы регулирования электрокинетических характеристик эритроцитов. Как и в любой гомеостатической системе, функционирование механизмов, контролирующих свойства поверхности эритроцитов, направлено в первую очередь на поддержание их относительного постоянства. К электрокинетическому потенциалу эритроцитов в силу его существенного влияния на суспензионную устойчивость крови и протекание микроциркуляторных процессов предъявляются особенно жесткие требования. Он должен обладать стабильностью, достаточной для предотвращения агрегации эритроцитов в сосудистом русле, и в конечном счете гарантировать эффективное снабжение ими тканей организма кислородом.

По-видимому, биоэлектрический гомеостаз клеток красной крови в значительной мере достигается за счет перераспределения отдельных субпопуляций эритроцитов по ЭФП в таких пропорциях, которые способны обеспечить сохранение оптимального суммарного уровня показателя. В результате средняя величина ЭФПЭ остается в крови практически неизменной или колеблется незначительно, тогда как индивидуальная подвижность клеток в электрическом поле может варьировать в довольно широких пределах, проявляясь в изменениях параметров формы распределения эритроцитов по ЭФП.

Предполагаемый механизм регуляции в ряде случаев позволяет сохранить приемлемый для гомеостаза уровень электрокинетического потенциала эритроцитов даже при наличии в организме патологического процесса. Влияния воздействий, потенциально способных вызвать изменение ЭФПЭ, компенсируются работой механизмов, очевидно, реализующихся на разных уровнях, но так или иначе препятствующих резкому сдвигу средней по популяции подвижности клеток. В выявляемых факторных структурах это находит выражение в совместном варьировании характеристик ЭФПЭ и показателей, причастных к адаптационным реакциям или же, напротив, играющих определенную роль в дестабилизации функций эритроцитов [4, 5]. При хроническом пиелонефрите, например, таким путем сохраняется постоянство не только среднего уровня ЭФПЭ, но и присущего норме соотношения в общей массе эритроцитов долей клеток с разной подвижностью. Значительно чаще, однако, относительная устойчивость ЭФПЭ достигается благодаря изменению баланса отдельных субпопуляций.

В частности, при ослаблении кислородтранспортной функции крови (ЖДА) структурные перестройки в эритроцитарной популяции, проявляющиеся увеличением доли эритроцитов с повышенной подвижностью на фоне общего снижения разнообразия эритроцитов, опосредованы, вероятно, через активацию процессов их продукции и деструкции. У взрослых больных компенсация выражается в изменении качественного состава популяции, а у детей – в наличии корреляций характеристик ЭФПЭ с общим содержанием эритроцитов в периферической крови.

При многих патологических состояниях превалирует процесс накопления в крови эритроцитов с низкой подвижностью, сочетающийся, как правило, с возрастанием

гетерогенности их популяции. Такое увеличение диапазона динамического варьирования клеток имеет большие преимущества, поскольку при общей тенденции к снижению величины электрокинетического потенциала в общем пуле тем не менее присутствует достаточная доля эритроцитов с подвижностью (зарядом), препятствующей их агрегации. Можно полагать поэтому, что рост разнородности клеток красной крови по ЭФПЭ представляет собой универсальную ответную реакцию организма на воздействие факторов, непосредственно повреждающих мембраны и/или оказывающих на них деструктивное влияние гуморальным путем.

К числу таких факторов относится, в частности, активизация свободнорадикальных процессов в мембранах эритроцитов и плазме крови. Так, при онкопатологии, характеризующейся резким нарастанием интенсивности окислительных процессов в эритроцитарных мембранах, поверхностные свойства эритроцитов прямо зависят от них [4]. Причем влияние затрагивает не популяцию в целом, а лишь отдельные ее субпопуляции. Надежность компенсаторных реакций, направленных на сохранение суспензионной стабильности крови, обеспечивается ростом гетерогенности популяции клеток, сопряженным с накоплением в сосудистом русле эритроцитов с чрезмерно низкой ЭФП. Аналогичным путем реализуется, очевидно, и поддержание приемлемого для микроциркуляции уровня ЭФПЭ при действии на эритроциты эндотоксинов при хроническом гломерулонефрите, а также в экстремальных для организма состояниях (оперативное вмешательство).

Обобщая полученный материал, можно констатировать, что нетрадиционный подход к анализу изменений ЭФПЭ, основанный на учете поведения параметров распределения подвижности клеток, позволил выявить основной механизм ее контроля, сводящийся к компенсаторным модификациям тонкой структуры эритроцитарных популяций. К тому же оказалось, что наблюдаемые изменения зависят и от состояния обследуемого (вида заболевания или воздействия). При этом вопреки мнению об отсутствии влияния на ЭФПЭ пола и возраста человека [7] нами убедительно продемонстрировано наличие половой и возрастной специфики этого показателя как в норме, так и при патологии. Последнее подводит к предположению, что поскольку ЭФПЭ отражает свойства мембран эритроцитов, то не исключено существование различий по полу и возрасту свойств самих этих мембран. Подобные возрастные особенности представляются весьма вероятными уже в связи с тем, что физико-химические характеристики эритроцитарных мембран меняются в ходе индивидуальной жизни эритроцита в циркуляции [1]. Гипотеза же о качественном различии эритроцитов крови мужчин и женщин высказана нами ранее [6] на основе сопоставления других показателей. Впрочем эти умозаключения нуждаются в проверке на основе специальных экспериментов.

Summary

Matyushichev V. B., Shamratova V. G. Factors of erythrocyte electrophoretic mobility control at norm and under pathology.

The features of the human blood erythrocyte electrophoretic mobility parameters behavior at the norm al conditions and under series of pathological breaches were studied. It was shown that at norm as well as under pathology the control mechanism of erythrocytes electrokinetic properties came to compensatorial modifications of fine structure of erythrocyte population. In so doing the character of the observed changes depends on the status of the examined person (the kind of disease or influence). The presence of sex and age specificity of electrophoretic mobility of red blood cells at norm as well under arterial hypertension and nephropathology was demonstrated.

Литература

1. Березина Т. Л., Иванов Г. Г., Козинец Г. И. Прогностическое значение электрокинетических свойств эритроцитов у больных с множественной травмой и кровопотерей // Анест. и реаниматол. 1984. №1. С. 47–50.
2. Варламова С. В. Методы сепарации возрастных фракций эритроцитов // Лаб. дело. 1989. №9. С. 32–35.
3. Матюшичев В. Б., Шамратова В. Г. Механизмы контроля электрофоретической подвижности эритроцитов крови при нейроциркуляторной дистонии // Физиол. человека. 1996. Т. 22. №4. С. 104–107.
4. Матюшичев В. Б., Шамратова В. Г. Изменения электрофоретической подвижности эритроцитов крови при онкопатологии // Биофизика. 1996. Т. 41. Вып. 5. С. 1093–1096.
5. Матюшичев В. Б., Шамратова В. Г. Механизмы изменений электрофоретической подвижности эритроцитов крови при нефропатологии // Цитология. 1996. Т. 38. №1. С. 85–88.
6. Матюшичев В. Б., Шамратова В. Г., Музафарова Д. А., Гуцаева Д. Р. Качественное различие эритроцитов крови мужчин и женщин // Бюл. эксперим. биол. и мед. 1999. Т. 128. №10. С. 372–374.
7. Мирошников А. И., Фомченков В. М., Иванов А. Ю. Электрофизический анализ и разделение клеток. М., 1986.
8. Окунь Я. Факторный анализ. М., 1974.
9. Постнов Ю. В., Орлов С. Н. Первичная гипертензия как патология клеточных мембран. М., 1987.
10. Харамоненко С. С., Ракитянская А. А. Электрофорез клеток в норме и патологии. Минск, 1974.
11. Adee B., Ton S., Muslim N. Effect of age, weight, rase and sex on blood pressure and erythrocyte sodium pump characteristics // Clin. and Exp. Hypertensis. 1990. Vol. 12. N6. P. 1115–1134.
12. Maeda N., Kon K., Tateishi N. Rheological properties of erythrocytes in recombinant human erythropoietin-administered normal rat // Brit. J. Haematol. 1989. Vol. 73. N1. P. 105–111.

Статья принята к печати 19 февраля 2007.