

УДК 616.24-008.4+616.12-008

© 2011 А.П. Горис, Е.Г. Зарубина, С.В. Москвин

ИЗУЧЕНИЕ ДЕФОРМИРУЕМОСТИ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ МЕТОДОМ «ЛАЗЕРНЫЙ ПИНЦЕТ» У ПАЦИЕНТОВ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП С ГИПОКСИЯМИ И ЛИХОРАДКОЙ

Возрастные изменения деформируемости мембран эритроцитов на фоне сердечной и дыхательной недостаточности, лихорадки усугубляют расстройства кровоснабжения тканей и органов на микроциркуляторном уровне, что является важным фактором ухудшения прогноза заболевания, особенно у лиц, старше 50 лет.

Ключевые слова: деформируемость эритроцитов, эритроцитарная мембрана, гипоксия, лихорадка, микроциркуляция

Введение. При многих патологических состояниях эритроциты первыми реагируют на нарушением деформируемости своей мембраны [1,2,5]. При увеличении температуры в эритроцитарных мембранах происходит нарушение их физико-химических свойств, количественное и качественное изменение мембранных липидов и белков [10], что в итоге сказывается на снижении пластичности эритроцитов и увеличении их агрегации, что, в свою очередь является ведущим звеном в расстройстве микроциркуляции.

С увеличением возраста пациентов деформируемость эритроцитарной мембраны снижается, что также приводит к изменению эффективности функционирования микроциркуляторного русла [7]. Вместе с тем, с возрастом отмечается рост соматической патологии, предъявляющей повышенные требования к системе микроциркуляции. К числу таких заболеваний относятся, прежде всего, хронические заболевания легочной и сердечно-сосудистой систем, протекающих с дыхательной и сердечной недостаточностью, основным проявлением которых является гипоксия - типовой патологический процесс, связанный с нарушением доставки кислорода тканям [1-4,8,11].

Цель исследования: Изучить изменения деформабильности эритроцитарных мембран у пациентов различных возрастных групп с гипоксиями различного генеза и лихорадкой.

Материал и методы исследования. Были обследованы практически здоровые люди (n=111), больные с хроническими обструктивными болезнями легких (ХОБЛ) и хронической сердечной недостаточностью (ХСН) (n=55) и больные с пневмониями (n=161) в возрасте от 20 до 59 лет.

Для изучения влияния гипоксии на деформируемость мембран эритроцитов пациенты с ХОБЛ и ХСН были разделены на основе возрастного критерия на 2 группы: I группа - пациенты в возрасте от 40 до 49 лет (n=30) и II группа – пациенты от 50 до 59 лет (n=25). При этом в первую и вторую группу были включены пациенты с одинаковой по тяжести патологией. В контрольную группу были включены практически здоровые люди, которые также были разделены на основе возрастного критерия на 2 группы: III группа - пациенты в возрасте от 40 до 49 лет (n=28) и IV группа – пациенты от 50 до 59 лет (n=23).

Для изучения деформируемости мембран эритроцитов у пациентов с лихорадкой было обследовано 8 групп пациентов, страдающих пневмониями средней степени тяжести (группы А, лихорадка до 38⁰С) и тяжелого течения (группы Б, лихорадка 40⁰С): IА (n=18) и IБ груп-

пы ($n=21$) в возрасте от 20 до 29 лет; ПА ($n=19$) и ПБ группы ($n=22$) в возрасте 30-39 лет; ША($n=18$) и ШБ ($n=19$) в возрасте 40-49 лет; IVA ($n=21$) и IVБ группы ($n=23$) в возрасте 50-59 лет. В контрольную группу были отнесены практически здоровые люди, которые были разделены на основе возрастного критерия на четыре группы: от 20-29 лет (I группа); от 30-39 лет (II группа); от 40-49 лет (III группа); от 50-59 лет (IV группа).

Цельную кровь получали путем пункции локтевой вены. В качестве антикоагулянта использовали ЭДТА. Эритроциты отделяли от плазмы центрифугированием (10 мин при 1500 об/мин). Рабочую суспензию эритроцитов получали с помощью трехкратной отмывки раствором низкой ионной силы Liss (производитель ООО «Гематолог») с режимом центрифугирования при 2700 об/мин в течение 8 минут.

Определение деформируемости эритроцитарной мембраны проводилось посредством методики лазерного пинцета путем измерения относительного удлинения эритроцитов под воздействием лазерного пучка с длиной волны излучения 1,08 мкм и максимальной выходной мощностью около 200 мВт. Выбранная длина волны позволяла попасть в полосу прозрачности эритроцитов и минимизировать негативное воздействие излучения на объект. Скорость перемещения пятна оптической ловушки составляла около 15-20 мкм/сек. Пучок от лазера проходил через коллиматор и направлялся в 100х объектив микроскопа МИН-8. Результаты экспериментов записывались на ПЗС камеру, подключенную к компьютеру. Размер эритроцита определялся по его теневому контуру. Первоначальные размеры эритроцитов составляли от 6,2 мкм до 8,1 мкм. Деформируемость мембран эритроцитов определялась при помощи программы контурного анализа клеток [6].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica for Windows 6.0. Достоверность различий средних величин оценивали при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. При изучении деформируемости мембран эритроцитов методом лазерный пинцет были получены данные, которые позволяют говорить о том, что возраст пациентов играет большую роль в степени адаптации организма больных к условиям гипоксии. При статистически одинаковой степени гипоксии у пациентов I-ой группы в структуре эритроцитов отмечалось увеличение количества «жестких» клеток не более чем на 6,7% ($p<0,05$). При этом пики распределения эритроцитов по степени растяжимости их мембран сохранялись без изменения (45% и 95%) (рис.1).

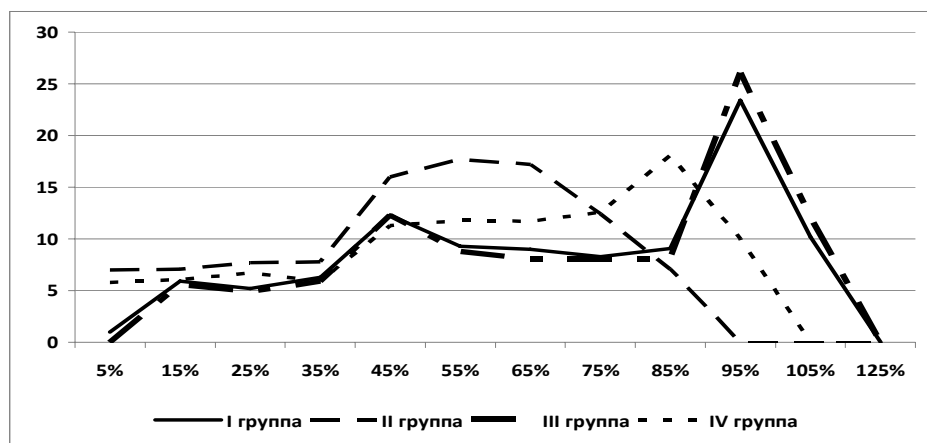


Рис. 1. Структура эритроцитов групп исследования в зависимости от степени растяжимости эритроцитарных мембран

У пациентов II-ой группы (50-59 лет), тот же уровень гипоксии вызвал более значительные нарушения в структуре субпопуляций эритроцитов - на 33% ($p < 0,001$) (рис. 2). Так, если у здоровых пациентов из группы контроля большая часть эритроцитов могла деформироваться на 85% от исходного диаметра, то на фоне гипоксии наибольшее количество эритроцитов не давало прирост в диаметре более 55-65% от исходного ($p < 0,001$).

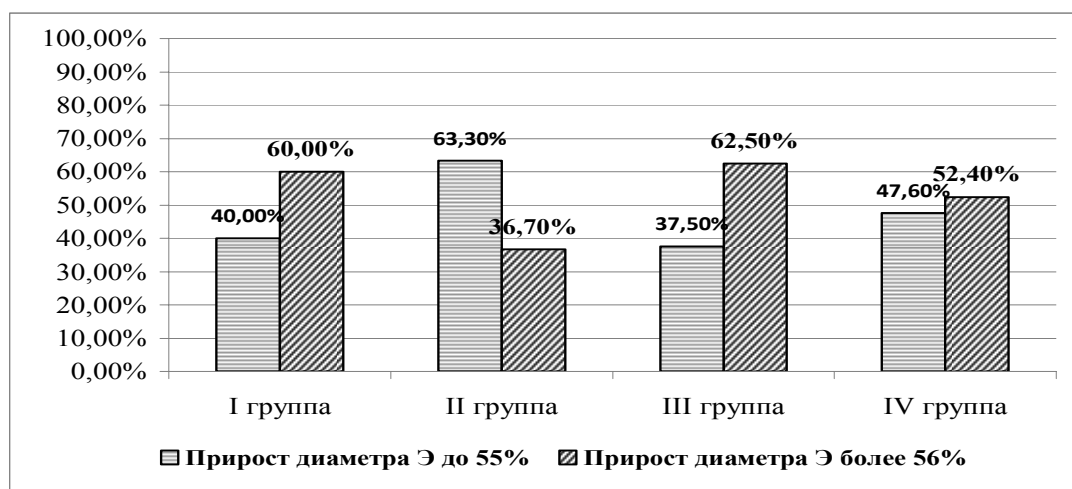


Рис.2. Соотношение различных по эластичности клеток крови у пациентов групп наблюдения

Таким образом, можно утверждать, что одинаковая по степени тяжести гипоксия у пациентов старших возрастных групп приводит к более выраженным нарушениям способности эритроцитов к деформации, что обусловлено возрастными изменениями в структуре их мембран: увеличение вязкости липидного бислоя за счет возрастания концентрации холестерина, увеличение содержания высокомолекулярных белков спектринов [12]. Выявленные изменения в реакции на гипоксию эритроцитов позволяют предположить, что данные механизмы являются значимыми при определении прогноза легочно-сердечной патологии у пациентов различных возрастных групп и могут быть одной из причин, обуславливающих более низкие сроки выживаемости пациентов с кардиопульмональной патологией в старших возрастных группах.

При изучении деформируемости красных клеток крови у больных с лихорадкой было установлено, что у пациентов IA,Б групп повышение температуры тела практически не влияет на состояние мембран эритроцитов при 38⁰С, и очень незначительно (статистически не достоверно) повышается жесткость мембран красных клеток крови при лихорадке в 40⁰С (рис. 3). У пациентов 30-39 лет влияние лихорадки на деформируемость эритроцитов было более значительным (рис.4), чем у лиц более молодого возраста. Под влияние лихорадки деформируемость мембран эритроцитов ухудшалась в среднем на 11,8% ($p < 0,05$) и 31,9% ($p < 0,001$) соответственно по сравнению с показателями контрольной группы. У пациентов третьей группы влияние лихорадки на морфофункциональное состояние эритроцитов заключалось в значительном изменении их деформабильности уже при повышении температуры до 38⁰С (рис.5). При этом количество эритроцитов, способных деформироваться более чем на 55% от своего исходного диаметра уменьшалось на 16,8% и 23,5% соответственно по сравнению с показателями контрольной группы. Аналогичная динамика прослеживалась и у пациентов старшей возрастной группы, где отмечалась наибольшая выраженность морфофункциональных расстройств эритроцитов на фоне лихорадки (рис.6).

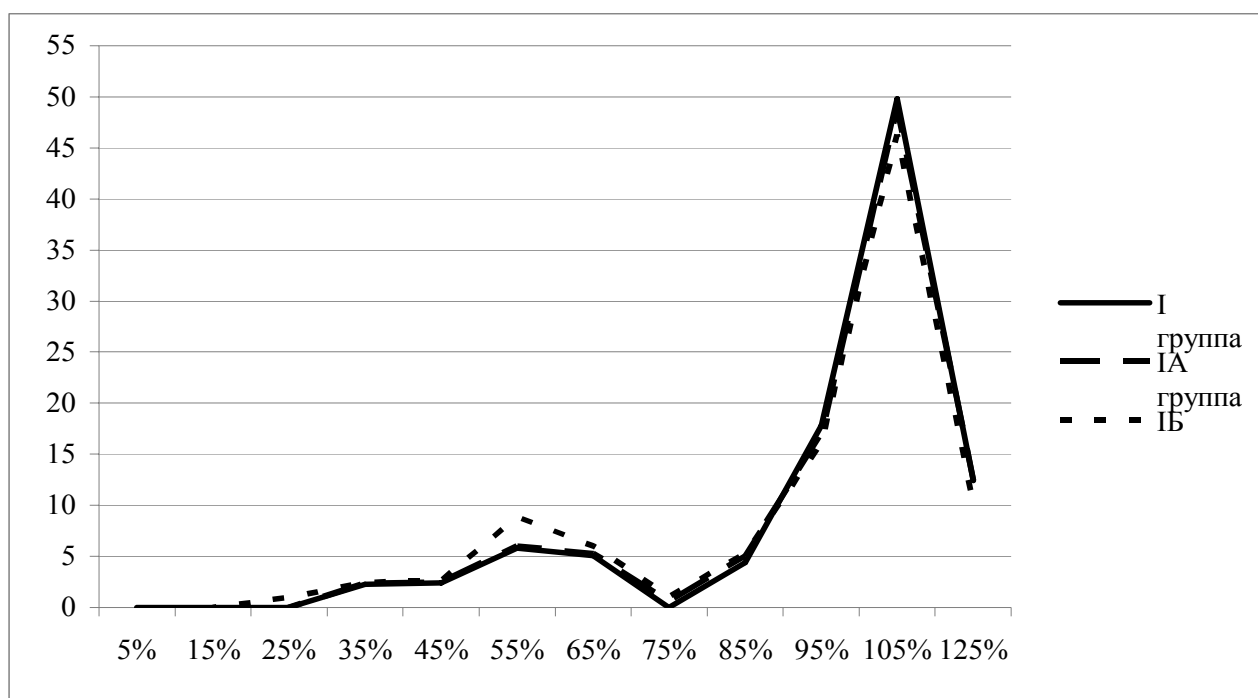


Рис.3. Графики распределения эритроцитов с различной эластичностью в зависимости от температуры у пациентов 20-29 лет

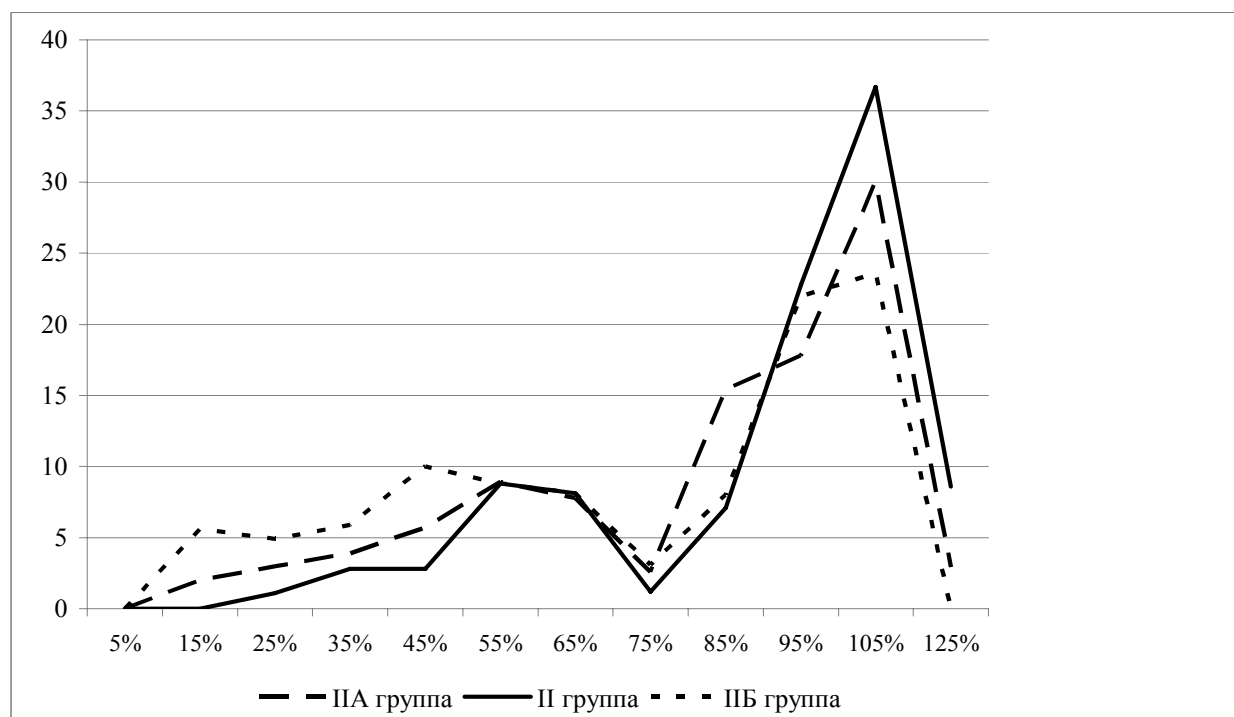


Рис. 4. Графики распределения эритроцитов с различной эластичностью в зависимости от температуры у пациентов 30-39 лет

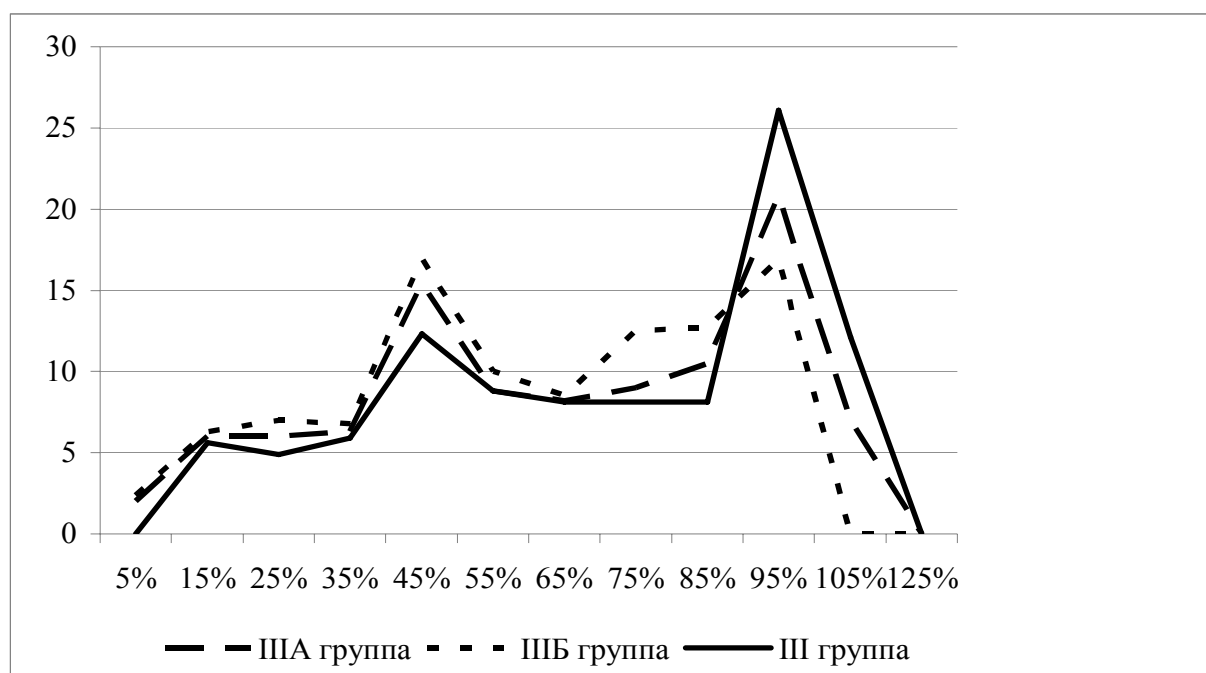


Рис. 5. Графики распределения эритроцитов с различной эластичностью в зависимости от температуры у пациентов 40-49 лет

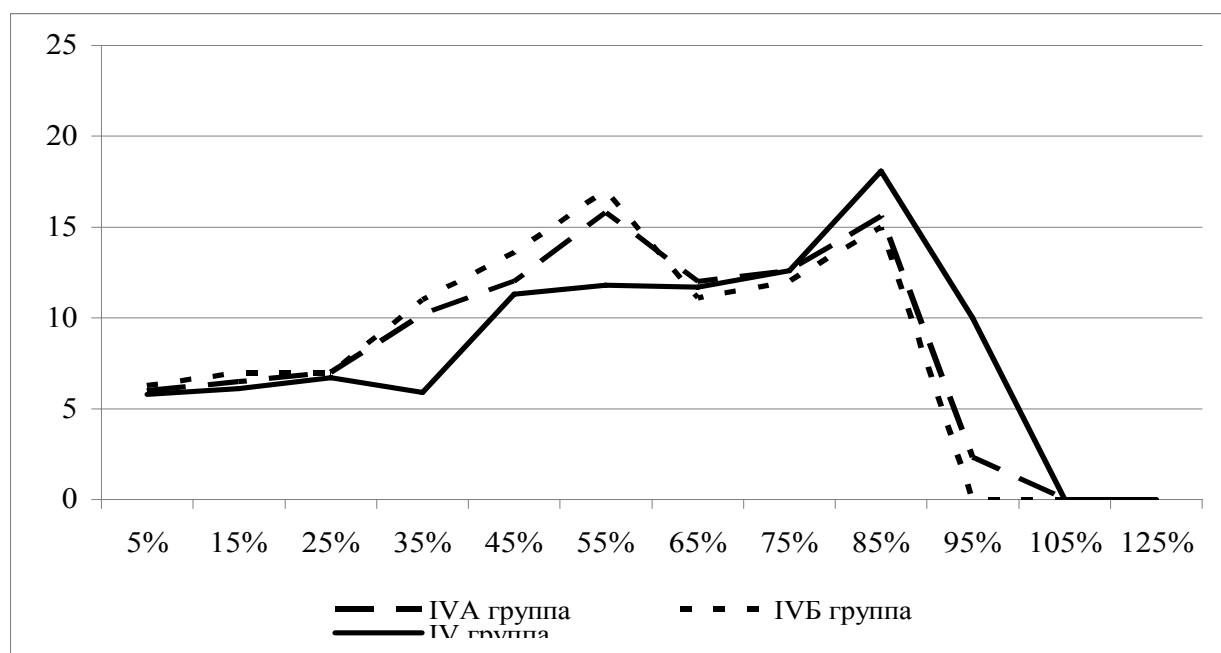


Рис. 6. Графики распределения эритроцитов с различной эластичностью в зависимости от температуры у пациентов 50-59 лет.

По сравнению с группой контроля деформируемость эритроцитов уменьшилась на 23,3% ($p < 0,001$) и 37,5% ($p < 0,001$) соответственно.

Таким образом, при лихорадках наблюдается уменьшение деформируемости эритроцитарных мембран [9], связанное с нарушением их физико-химических свойств, количественным и качественным изменением мембранных липидов и белков [10], что в итоге сказывается

ся на снижении пластичности эритроцитов и увеличении их агрегации, что в свою очередь является ведущим звеном в расстройстве микроциркуляции.

Выводы. Возрастные физиологические изменения морфофункционального состояния мембран эритроцитов и изменения деформабильности мембран на фоне соматической патологии (сердечная, дыхательная недостаточность, лихорадка) приводят к синдрому взаимного утяжеления, усугубляют расстройства кровоснабжения тканей и органов на микроциркуляторном уровне, что является важным фактором ухудшения прогноза заболевания, особенно у лиц, старше 50 лет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байбеков И.М., Мавлян-Ходжиев Р.Ш., Эрстекис А.Г., Москвин С.В. Эритроциты в норме, патологии и при лазерных воздействиях. М. Тверь: «Издательство Триада», 2008. 256 с.
2. Ветчинникова О.Н., Плаксина Г.В., Горенков Р.В. Реологические и морфологические показатели крови в оценке тяжести течения и эффективности лечения бронхолегочных и сердечно-сосудистых заболеваний // Гематология и трансфузиология. 2002. № 5. С. 29-33
3. Ганелина И.Е., Денисенко А.Д., Катюхин Л.Н. Липиды плазмы крови и реологические свойства эритроцитов у больных со стабильной стенокардией // Кардиология. 2000. Т. 40. № 8. С. 62-63.
4. Зарубина Е.Г. Структурно-функциональные эритроцитарные нарушения у больных инфарктом миокарда и их коррекция: автореф. дисс. ... докт. мед. наук. Москва, 2002.
4. Зинчук В.В. Деформируемость эритроцитов: физиологические аспекты // Успехи физиол. наук. 2001. Т.32-№ 3. С.64-76.
5. Коробцов А.В., Котова С.П., Лосевский Н.Н., Майорова А.М., Кленов Р.О., Кленова Н.А. Применение лазерного пинцета для изучения механических свойств эритроцитов //Известия Самарского науч. центра РАН. 2009. Т.11. №3. С.76-81.
6. Муравьев А.В., Тихомирова И.А., Булаева С.В. и др. Изменение микрореологических свойств эритроцитов с возрастом: роль Ca^{2+} //Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2007. Т. 6. № 24. С. 60-63.
7. Новгородцева Т.П., Абакумов А.И., Сорокина Л.В. Методы многомерной статистики и диагностическое значение жирных кислот эритроцитов при сердечно-сосудистых заболеваниях // Клинич. лаб. диагностика. 2001. № 3. С. 8-12.
8. Садретдинов Р.А., Галимзянов Х.М. Гемодинамические типы микроциркуляции у больных инфекционными лихорадками //Фундаментальные исследования. 2010. №7. С. 63-66.
9. Соколова И.А. Изменение реологических свойств крови при острых экспериментальных нарушениях мозгового кровообращения и их коррекции /И.А. Соколова, А.А. Шахназаров и др.// Гемореология в микро- и макроциркуляции: Мат.международн.конф. Ярославль, 2005. 38 с.
10. Caimi G., Hoffmann E., Montana M. Haemorheological pattern in young adults with acute myocardial infarction // Clin. Hemorheol. Micricirc. 2003. Vol. 29, N 1. P. 11-18.
11. Wiernsperger, N. Microcirculation and the metabolic syndrome / N. Wiernsperger [et al] // Microcirculation. — 2007. Vol. 14. № 4-5. P. 403-438.