

УДК 612.235:616.053.31:616.523

М.Т.Луценко, Е.В.Надточий

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЭРИТРОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ГИПОКСИИ У БОЛЬНЫХ С БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ*Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания Сибирского отделения РАМН, Благовещенск***РЕЗЮМЕ**

Проведен анализ состояния эритроцитов периферической крови у больных с бронхиальной астмой. Установлено, что на фоне дыхательной гипоксии у больных БА развиваются морфофункциональные изменения в эритроцитах, что подавляет в них энергетические процессы и вызывает появление большого количества дегенеративных форм. Гипоксия у больных БА усиливается и приводит к появлению тканевой гипоксии и обструкции воздухоносных путей.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гемоглобин, эритроциты, гипоксия.

SUMMARY

M.T.Lutsenko, E.V.Nadtochiy

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN ERYTHROCYTES OF PERIPHERAL BLOOD AT HYPOXIA IN PATIENTS WITH BRONCHIAL ASTHMA

The analysis of peripheral blood erythrocytes state in patients with bronchial asthma has been carried out. It is established that against respiratory hypoxia patients with bronchial asthma have morphofunctional changes in erythrocytes. This suppresses power processes in erythrocytes and brings out a great amount of degenerative forms. Hypoxia in patients with bronchial asthma gets worse and leads to tissue hypoxia and obstruction of air ways.

Key words: bronchial asthma, hemoglobin, erythrocytes, hypoxia.

Гипоксия – широко распространенное явление, возникающее при разных патологических состояниях, связанных с нарушением функций дыхательной, сердечно-сосудистой систем, а также транспортной функции крови. В конечном счете, во всех случаях происходит снижение доставки кислорода к тканям до уровня, недостаточного для поддержания функции метаболизма. В настоящее время накоплено много данных о физиологических, биохимических и молекулярных механизмах гипоксии.

Одним из решающих условий для возникновения гипоксических состояний является ограничение доставки кислорода из внешней среды к клетке, где он участвует в реакциях аэробного образования энергии, поскольку является субстратом терминального фермента митохондриальной дыхательной цепи цитохромоксидазы [7]. Дефицит доставки кислорода в определенных условиях может

приводить к необратимому подавлению активности этого фермента и как следствие к остановке дыхания и подавлению аэробного образования энергии. Снижение уровня макроэргов (АТФ) считается одним из главных признаков гипоксии. Все жизненные процессы связаны с расходом энергии. Метаболические процессы снижаются при участии внутриклеточного процесса окислительного фосфорилирования на 15-20%. Это имеет принципиальное значение для жизнедеятельности клетки в условиях дефицита кислорода, так как энергетический обмен является мишенью для гипоксии [3, 5, 8].

Особое внимание приобретают эти явления при заболеваниях органов дыхания, таких как бронхиальная астма, при которой в силу повреждения воспалительным процессом дыхательных путей создаются препятствия к газообмену в респираторных отделах легких. Это в свою очередь отражается на морфофункциональном состоянии эритроцитов периферической крови, которые в таких условиях претерпевают тяжелые морфологические и метаболические изменения. Таким образом, при бронхиальной астме возникает замкнутый порочный круг: формирование дыхательной гипоксии порождает гемическую недостаточность (снижение дыхательной активности эритроцитов), что в свою очередь усиливает общую тканевую гипоксию, в том числе и в тканях слизистой воздухоносных путей, приводя к развитию тяжелой обструкции в дистальных отделах воздухоносных путей.

Материал и методы исследования

В работе выделены 3 группы больных с бронхиальной астмой (БА): 1) с легким течением (40 человек); 2) со средней степенью тяжести БА (60 пациентов) и 3) больные с тяжелой формой течения (43 пациента). Контрольную группу составили практически здоровые люди в возрасте от 18 до 39 лет (19 человек). Параметры внешнего дыхания изучались в динамике с использованием аппарата «Ultrascreen» (Эрих Егер, Германия). Вентиляционная функция легких оценивалась по данной кривой «поток-объем» форсированного выдоха. Газовый состав крови определяли на газоанализаторе Chiron/Diagnostics-865 (Ciba Corning, Германия). Морфологические исследования эритроцитов (процентный состав различных видов эритроцитов) выполнялись на цитофотометрической компьютерной установке «Мекос» (Москва).

Активность перекисей жирных кислот определяли по методу Л.Я.Прошиной [6]; 2,3-ДФГ и АТФ

в эритроцитах по методу И.Л.Виноградовой [1]. Обследование больных проводилось на базе пульмонологического отделения ДНЦ ФПД СО РАМН с применением общеклинических, функциональных, рентгенологических, аллергологических, бронхологических, бактериологических, лабораторных и статистических методов. Все исследования были проведены с учетом требований Хельсинской декларации «Рекомендации для врачей по биомедицинским исследованиям на людях» (2000).

Результаты исследования и их обсуждение

Показатели внешнего дыхания у больных бронхиальной астмой средней и тяжелой степени тяжести представлены в таблице. Данные показали, что у больных со средней степенью тяжести резко снижается ОФВ₁ по сравнению с контролем. Еще более отчетливо отмечается недостаточность проходимости дистальных отделов бронхиальных путей: МОС₂₅; МОС₅₀; МОС₇₅ по сравнению со здоровыми лицами. При тяжелой степени тяжести эти показатели становятся еще более низкими (табл.).

Как видно из данных таблицы, у больных со средней и особенно тяжелой степенью тяжести отмечается выраженное нарушение проходимости воздуха через дистальные отделы дыхательных путей, что создает тяжелую гипоксию в организме. Складывающаяся ситуация приводит к накоплению в периферической крови перекисей жирных кислот и нарушению оксигенации гемоглобина. Это находит отражение в формировании ацидотического состояния. В артериальной крови накапливаются кислые продукты метаболизма, и происходит снижение щелочных ее резервов. У здоровых лиц рСО₂ определяется в пределах 40,0 мм рт. ст., а ВЕ в пределах – 0,98±0,2 ммоль/л. У лиц, страдающих бронхиальной астмой средней тяжести, ВЕ повышалось до 1,5±0,02 ммоль/л в то время как рСО₂ снижалось до 38,7±1,6 мм рт. ст. Это свидетельствует о формировании компенсированного дыхательного ацидоза. Частота дыхания у этих пациентов при поступлении в клинику регистрировалась на уровне 20-21 в 1 мин., что по сравнению с нормой было на 12,5±0,8% выше.

Одновременно, на фоне увеличивающегося ко-

личества кислых продуктов в крови отмечается снижение АВ (истинных НСО₃-act) до 24,8±1,7 ммоль/л (здоровые – 28,5±1,9 ммоль/л) и стандартных НСО₃-std бикарбонатов до 24,0±1,8 ммоль/л (здоровые – 26,1±1,7 ммоль/л). Отмечался сдвиг рН в кислую сторону до 7,35±0,06 (здоровые и лица с легким течением, соответственно, 7,4±0,07 и 7,38±0,08). Эти показатели не случайны, так как изменение баланса кислот и щелочей в крови пациентов с бронхиальной астмой приводило к сдвигу, хотя и незначительному, рН в сторону кислой реакции, что и отражалось на выявлении признаков декомпенсированного метаболического ацидоза.

Пациенты с тяжелым течением бронхиальной астмы характеризуются более выраженными симптомами дыхательной недостаточности. Прежде всего у них при обострении заболевания более выражена одышка, при которой число дыханий в минуту достигает 22, то есть от нормы этот показатель отличается в сторону увеличения до 25±1,9%. Парциальное давление СО₂ снижается до 37,0±1,8 мм рт. ст. Базовая буферная емкость повысилась до 1,8±0,08 ммоль/л. Истинная НСО₃ act (AB) снижается до 23,5±1,9 ммоль/л SB std – 22,6±1,4.

Таким образом, при тяжелом течении БА в крови пациентов, а, следовательно, это же наблюдается и в тканевой жидкости, мы отмечаем состояние выраженного дыхательного ацидоза.

В периферической крови у пациентов с тяжелым течением БА до лечения показатели рН крови увеличиваются в кислую сторону до 7,25.

В процессе исследования рО₂ в венозной крови пациентов с бронхиальной астмой мы установили, что при средней степени тяжести БА парциальное давление кислорода при обострении заболевания в среднем снижалось до 66,9±1,5 мм рт. ст. (здоровые лица от 93 до 100 мм рт. ст.). У лиц с тяжелой формой бронхиальной астмы показатели рО₂ резко снижены – до 56,3±2,1 мм рт. ст. Это квалифицировалось как выраженная венозная гипоксия. На фоне резкого падения напряжения кислорода в периферической крови больных, особенно с тяжелым течением бронхиальной астмы мы наблюдаем сложные взаимоотношения кислорода с гемоглобином эритроцитов. Общее количество гемоглоби-

Таблица

Показатели вентиляционной функции легких у больных БА (в % от должной величины)

Показатели	Здоровые (n=19)	Группы БА			
		Средней тяжести (n=30)	Тяжелого течения (n=25)	p	p ₁
ОФВ ₁	94,20±0,25	62,73±4,1	66,26±2,37	<0,01	>0,05
ФЖЕЛ	108,6±0,5	87,77±3,20	83,66±1,93	<0,05	<0,01
ЖЕЛ	112,3±1,52	88,00±3,58	97,7±1,91	<0,01	<0,01
МОС ₂₅	92,06±4,44	39,90±5,73	28,23±5,73	>0,001	<0,01
МОС ₅₀	85,61±0,56	29,10±4,42	31,46±2,54	<0,001	>0,05
МОС ₇₅	83,72±0,61	32,71±1,77	38,76±2,74	<0,001	>0,05
ИТ	94,20±0,25	66,73±2,45	74,00±2,54	>0,001	>0,05

Примечание: уровень значимости различий между группой здоровых и больных средней (p) и тяжелой степени тяжести (p₁).

на в крови при средней тяжести течения бронхиальной астмы составляет $14,3 \pm 0,8$ г/на 100 мл крови. Количество оксигемоглобина при такой ситуации определялось в пределах до $98,0 \pm 2,4$ %. Однако, по мере нарастания гипоксемии, как в артериальной, так и в венозной крови, что четко отмечалось при тяжелом течении БА, количество гемоглобина в крови снижалось до $13,7 \pm 1,4$ г/100 мл, а насыщение его кислородом падало до $96,0 \pm 3,1$ г/100 мл (здоровые лица – $115 \pm 0,15$ г/100мл).

Насыщение кислородом артериальной крови у больных с бронхиальной астмой. Показатели газообмена изучены у 35 больных с бронхиальной астмой среднетяжелого течения, у 40 пациентов с тяжелым течением, у 19 здоровых лиц и у 40 пациентов с легкой стадией течения. У здоровых лиц напряжение кислорода артериализованной капиллярной крови (PaO_2) составило $96,5 \pm 0,12$ мм рт. ст. При среднетяжелой форме течения заболевания у 22 обследованных (68,8%) отмечена выраженная гипоксемия – $66,3 \pm 1,9$ мм рт. ст., у 10 пациентов (28,5%) умеренная гипоксемия – $60,5 \pm 0,3$ мм рт. ст., и у 3 (2,7%) – сильно выраженная.

Значительно выше гипоксемия была отмечена у пациентов с тяжелым течением БА. Из 40 обследованных у 33 (82,5%) была зарегистрирована тяжелая форма гипоксемии – $57,3 \pm 2,9$ мм рт.ст. и только у 10 (17,5%), она составила $65,2 \pm 0,3$ мм рт. ст. Воспалительные изменения в трахеобронхиальном дереве диффузного характера было отмечено у 30 (85,7%) больных. У больных с тяжелым течением БА диффузное воспаление было выраженным у 36 (90%) из 40 больных.

Наиболее высокие показатели ИАЭ выявлены у больных тяжелого течения БА ($75,5 \pm 4,1$ %) по сравнению с пациентами, у которых отмечалось среднетяжелое течение заболевания ($51,2 \pm 3,5$ %). На таком фоне появились признаки гипоксического состояния тканевых структур многих органов.

Структурно-функциональное состояние гемоглобина в эритроцитах больных бронхиальной астмой. Гемоглобин является основным звеном, участвующим в переносе газов крови: кислорода и углекислого газа. Для нормальных конформационных гемовых переходов при оксигенации гемоглобина необходимым условием является наличие неизменных глобиновых цепей. При этом эритроцит здорового человека содержит большое количество гемоглобина HbA – $96,5 \pm 0,6$ %. Количество гемоглобина HbA2 – $2,3 \pm 0,2$ %. У здоровых лиц значительный процент приходится на термостабильный гемоглобин – $94,3 \pm 0,2$ %, по сравнению с термолабильным гемоглобином – $5,7 \pm 0,3$ %. Для нормального функционирования молекулы гемоглобина необходимым условием является возможность непрерывного перехода деокси-окси-структур. При БА происходило изменение кислородного режима, что проявилось в изменении скорости перехода одной структуры гемоглобина в другую за счет снижения его сродства к кислороду и сопровождалось уменьшением показателей HbA у лиц с тяжелой формой БА до $90,7 \pm 0,8$ % (БА средней тяжести – $92,3 \pm 0,7$ %). При этом увеличивалось содер-

жание гемоглобина HbA₂: БА средней тяжести – $7,7 \pm 1,4$ %; БА тяжелого течения – $8,3 \pm 0,09$ %. Сдвиг фракций гемоглобина отражался на его стабильности, которая несколько снижалась. Уровень термостабильного гемоглобина составил у больных с тяжелым течением БА $90,7 \pm 1,9$ % у пациентов с бронхиальной формой средней тяжести – $91,3 \pm 2,3$ %. Соответственно этой ситуации меняется и процентное содержание термолабильного гемоглобина. При тяжелой форме БА количество термолабильного гемоглобина повышается до $9,3 \pm 1,1$, а у пациентов со средней тяжестью до $8,7 \pm 1,9$ %.

При снижении основной фракции гемоглобина HbA на фоне повышения минорных компонентов HbA₂ происходят конформационные изменения гемоглобина, что и приводит к преждевременному разрушению эритроцитов, а также снижению транспорта кислорода к тканям. При этом если увеличивалось при тяжелой БА содержание термолабильных фракций гемоглобина, его конформационная конфигурация должна резко меняться, что способствовало нарушению связи гема с глобином, в результате чего происходило окисление атома железа до образования метгемоглобина, а также изменялось насыщение крови кислородом, поскольку изменялась связь гемоглобина с 2,3-ДФГ.

В группе больных с БА средней и тяжелой формы происходили заметные изменения в морфологическом строении эритроцитов. В отличие от контрольных исследований у больных с БА средней тяжести заметно снизилось содержание дискоцитов до $63,0 \pm 1,1$ % (контроль – $92,2 \pm 2,1$ %); количество эхиноцитов увеличилось до $6,5 \pm 0,4$ % (контроль – $3,2 \pm 0,8$ %); мишеневидных – до $10,5 \pm 0,5$ % (контроль – $3,1 \pm 0,6$ %); число дегенеративных эритроцитов увеличилось до $18,5 \pm 1,3$ % (контроль – $7,2 \pm 0,9$ %).

БА тяжелого течения характеризовалась более выраженными сдвигами в морфофункциональном статусе эритроцитов периферической крови. У больных с БА число дискоцитов при поступлении насчитывалось не более $52,1 \pm 2,0$ %, эхиноцитов – $10,9 \pm 1,1$ %, дегенеративных форм эритроцитов – $22,0 \pm 2,7$ %. При бронхиальной астме, в силу накопления в периферической крови метаболитов кислой реакции: лактата – $2,36 \pm 0,6$ ммоль/л (норма – $0,19 - 1,5 \pm 0,08$ ммоль/л), сдвига pH в сторону кислой реакции до 7,25 происходила активизация синтеза 2,3-ДФГ. Поэтому в венозной крови как у пациентов с БА средней тяжести, так и у лиц с тяжелым течением заболевания до лечения отмечалось повышенное содержание 2,3-ДФГ, которое находилось в пределах от $7,2 \pm 0,6$ до $6,65$ мкмоль/л.

Лимитирующим фактором в энергетическом процессе эритроцитов является синтез АТФ. При тяжелой форме течения БА содержание АТФ в эритроцитах как венозной, так и артериальной крови составило $0,52 \pm 0,06$ мкмоль/л.

Таким образом, мы можем утверждать, что выраженная гипоксемия как венозной, так и артериальной крови, порождающая дыхательный ацидоз угнетает энергетический обмен эритроцитов, сни-

жая в них синтез АТФ. Тщательными исследованиями [2] установлено, что у подавляющего большинства пациентов существенных изменений количества ретикулоцитов при этом не отмечается. Это свидетельствует, что причиной анемических состояний при неспецифических заболеваниях дыхательной системы становятся не выраженные нарушения кроветворения, а непосредственные патологические изменения в эритроцитах периферической крови. Нами установлено (по данным вышеизложенного материала), что по мере развития гипоксического состояния в артериальной и венозной крови при бронхиальной астме, особенно тяжелого течения, усиливаются деструктивные изменения в эритроцитах периферической крови: появляется большое количество дегенеративных форм эритроцитов и параллельно с этим ухудшаются в них энергетические процессы, то есть снижается содержание АТФ и увеличивается количество 2,3-ДФГ.

Особое внимание нужно обратить на тот факт, что по мере утяжеления характера заболевания, как в артериальной, так и в венозной крови у больных с бронхиальной астмой развивается гипоксия в артериальной и венозной крови. В венозной крови до лечения по сравнению с нормой pO_2 при бронхиальной астме средней тяжести течения снижалось на 31%, а при тяжелом течении – на 41,4%. В артериальной крови при средней тяжести течения заболевания pO_2 также снижалось на 31,0%, а при тяжелом течении заболевания – на 40,4%.

Таким образом, в сложившейся ситуации мы имели факт, развивающейся высокой гипоксемии, приводящей к выраженному дыхательному ацидозу. При этом недостаточность снабжения кислородом тканей слизистой оболочки бронхов подавляет энергетические процессы в клетках эпителия, соединительной ткани и гладкомышечных элементах, приводит к усилению процессов обструкции бронхиальных путей [4].

Выводы

1. Начальные стадии заболевания бронхиальной астмы характеризуется проявлением повышенной активности биогенных аминов, накоплением эндоперекисей и циркулирующих иммунных комплексов, приводящих к формированию гипоксического состояния в периферической крови: снижению уровня pO_2 , pCO_2 и появлению признаков метаболического ацидоза.

2. У больных бронхиальной астмой гипоксическое состояние приводит к нарушению биоэнергетических процессов в эритроцитах периферической крови, изменению конформации гемоглобина, снижению выработки АТФ и увеличению содержания внутриэритроцитарного 2,3-ДФГ.

3. Нарастания гипоксемии в периферической крови у больных с бронхиальной астмой деструктивно действуют на мембрану эритроцитов, снижая процентное содержание дискоцитов и увеличивая количество эхиноцитов, мишеневидных и дегенеративных форм.

4. Недостаточность снабжения кислородом тканей слизистой оболочки бронхов подавляет энергетические процессы в клетках эпителия, соединительной ткани и гладкомышечных элементах, приводит к усилению процессов обструкции бронхиальных путей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградова И.Л., Багренцева С.Ю., Дервиз Г.В. Метод одновременного определения 2,3-ДФГ и АТФ в эритроцитах // Лабор. дело. 1980. №7. С.424–426.
2. Коваль Н.Н. Система красной крови как фактор компенсации дыхательной недостаточности у больных с хроническими неспецифическими заболеваниями легких: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М. 1984. 40 с.
3. Современные проблемы гипоксии / Лукьянова Л.Д. [и др.] // Вестник РАМН. 2000. №9. С.3–11.
4. Луценко М.Т., Надточий Е.В. Морфофункциональная характеристика слизистой бронхов при бронхиальной астме на фоне гипоксии // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2008. Вып.28. С.38–43.
5. Гипоксия и оксид азота / Малышев И.Ю. [и др.] // Вестник РАМН. 2000. №9. С.44–48.
6. Прошина Л.Я. Исследование гистамина и серотонина в общей пробе крови // Лабор. дело. 1981. №2. С.90–93.
7. Скулачев В.П. H_2O_2 – сенсоры легких и кровеносных сосудов и их роль в антиоксидантной защите организма // Пульмонология. 2001. №2. С.6–8.
8. Регуляция механизма рекомбинации переключения на синтез иммуноглобулина Е / Geha R.S. [et. al.] // Аллергология и иммунология. 2005. Т.6, №1. С.23–37.

Поступила 22.10.2008

Михаил Тимофеевич Луценко, руководитель лаборатории,
675000, г. Благовещенск, ул. Калинина, 22;
Mikhail T. Lutsenko.,
22 Kalinin Str., Blagoveschensk, 675000;
E-mail: cfpd@amur.ru