

Medical Sciences

Медицинские науки

UDC 61: 577.3

Comparative Characteristics of Erythrocytes Charge Balance in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease

¹Larissa E. Muravlyova

²Vilen B. Molotov-Luchanskiy

³Dmitriy A. Klyuyev

⁴Evgeniya A. Kolesnikova

¹Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40, Karaganda city 10008

Dr (Biology), Professor

E-mail: lem2403@mail.ru

²Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40, Karaganda city 10008

Dr (Medicine), Professor

E-mail: vilen53@mail.ru

³Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40, Karaganda city 10008

PhD (Medicine), Assistant of professor

E-mail: mythrandir79@mail.ru

⁴Karaganda State Medical University, Kazakhstan

Gogol street, 40, Karaganda city 10008

Assistant

E-mail: kolesnikova.evgenya@gmail.ru

Abstract. The aim of the investigation is studying of erythrocytes charge balance in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) of bronchitic and mixed types. The similar trend of change Δ pH of erythrocytes in patients with COPD was observed during the incubation of red blood cells in the range of 37-58 °C. The thermograms represented decreasing curve, Δ pH ranged from -0.326 to -0.453 (the average value was -0.383). During subsequent 20- minute incubation of erythrocyte suspension at 58 °C, two main types of thermal images, depending on the degree of respiratory failure were recorded. Possible mechanisms of the erythrocytes charge balance alterations in patients with COPD are discussed.

Keywords: chronic obstructive pulmonary disease; charge balance; erythrocytes.

Введение. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) – одна из важнейших проблем современного здравоохранения. Во всем мире отмечается увеличение числа больных и рост смертности от ХОБЛ, поскольку это заболевание ведет к расстройству газообмена и развитию дыхательной недостаточности [1]. Развитие гипоксического состояния при ХОБЛ сопровождается изменениями со стороны эритроцитарного звена. Отмечено снижение нормальных дискоцитов при увеличении эхиноцитов, сфероцитов, овалоцитов, а также появление каплевидных, мишеневидных и других дегенеративных форм. [2, 3]. Е.В. Приваловой и соавт выявлена тенденция к снижению средней концентрации гемоглобина в эритроците выявлена тенденция к снижению средней концентрации гемоглобина в эритроците [4, 5]. Зафиксирована кластеризация белков эритроцитарных мембран при снижении SH-групп у больных ХОБЛ с тяжелым течением ХОБЛ. У больных этой группы возрастало содержание мембраносвязанного гемоглобина, изменяющего структурно-функциональное состояние красных клеток; обнаружено изменение физико-химических свойств эритроцитов: снижение электродиффузного потенциала пробоя, индекса фильтруемости при увеличении коэффициента

индуцированной максимальной агрегации [6]. О снижении показателей электрофоретической подвижности эритроцитов крови больных ХОБЛ указано в работе Цыбжитовой Э.Б. и соавт. [7]. Нарушение структурно-функционального состояния эритроцитов может привести к снижению деформируемости, увеличению тенденции к агрегации, что усугубляет гемодинамические расстройства, провоцирует дальнейшие нарушения кислород-транспортной функции крови, способствуя нарастанию гипоксии [8]. Это позволило рассматривать изучение биофизических характеристик крови у больных ХОБЛ различной степени тяжести как одно из перспективных направлений исследования.

Целью нашего исследования явилось изучение зарядового баланса эритроцитов эритроцитов крови больных с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) бронхитического и смешанного типов.

Материалы и методы исследования

Было сформировано 2 группы пациентов. За основу распределения больных по группам взят принцип классификации ХОБЛ в зависимости от преобладания обструктивного или рестриктивного характера поражения бронхолегочной системы [9]. В первую группу вошли 24 больных ХОБЛ бронхитического типа в возрасте от 41 до 59 лет. У этих больных отмечались клинические проявления обструктивного типа дыхательной недостаточности. Во вторую группу вошли 27 больных ХОБЛ смешанного типа в возрасте от 47 до 63 лет. В данной группе были сосредоточены больные как с проявлениями синдрома бронхообструкции, длительным кашлем с гиперсекрецией мокроты, так и с клиникой рестриктивной недостаточности и эмфиземы легких.

Все пациенты обследовались в стационаре во время прохождения планового лечения. Все пациенты были курильщиками со стажем от 10 до 25 лет. Индекс курящего человека (ИКЧ) как основной показатель, используемый для расчёта частоты табакокурения (количество выкуренных в день сигарет, умноженное на число месяцев в году, которые человек курил) составил в первой группе более 250. ИКЧ во второй группе – 263.

В качестве основного критерия диагноза ХОБЛ использовался золотой диагностический стандарт – выявление частично необратимой бронхиальной обструкции при исследовании вентиляционной функции легких. Объем форсированного выдоха в первую секунду (FEV₁) был снижен у 100 процентов больных. Для оценки обратимости обструктивных нарушений вентиляции проводили фармакологическую пробу. Исходное значение FEV₁ сравнивали с тем же параметром через 30–45 мин после ингаляции симпатомиметика (400 мкг) или холинолитика (80 мкг), или комбинации бронхолитиков разного механизма действия. Прирост FEV₁ составлял менее 10%, что расценивалось как необратимость бронхиальной обструкции. С этой же целью проводилась пикфлоуметрия (n=17). Прирост пиковой скорости выдоха менее чем на 10% отмечался у всех пациентов.

Объектом исследования явилась цельная кровь больных. У всех обследованных лиц было получено информированное согласие на исследование.

Регистрацию зарядового баланса эритроцитов проводили по методу А.Е. Громова и соавт. [10]. Для исследования зарядового баланса крови был использован сконструированный нами прибор «Регистратор зарядового баланса крови» [инновационный патент Республики Казахстан № 25629]. Принцип регистрации зарядового баланса эритроцитов основан на изменении рН эритроцитов (Δ рН) при термостимуляции, и последующей инкубации при 58°C. Регистрация начиналась при прогреве кюветы до 35°C. После установления 58°C запись измерений вели еще 20 минут.

Для оптимизации анализа на кривой выделяли два домена. Первый домен лежит в интервале изменения температур от 37 до 58° С. Первая реперная точка регистрации рН - при температуре 37 °С, вторая реперная точка – при 58° С. В этом диапазоне могут наблюдаться различные варианты изменения Δ рН. Этот параметр может возрастать (Δ рН) или снижаться ($-\Delta$ рН). Поэтому фиксировали направленность Δ рН и температуру точки перехода. Второй домен отражает Δ рН при постоянной температуре 58 °С в течение 20 минут [11].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакета прикладных программ STATISTICA версия 7.0 с учетом вычислительных методов, рекомендуемых для биологии и медицины.

Результаты исследования

Анализ полученных данных показал, что в диапазон показателей термограммы (в интервале от 37°С до 58°С) эритроцитов крови больных ХОБЛ как бронхитического, так и смешанного типов, имеют сходный характер.

На рисунке 1 представлена типичная термограмма эритроцитов больного ХОБЛ.

У больных наблюдался один основной тип зависимости ΔpH эритроцитов от температуры. Данный тип зависимости описывается монотонно убывающей кривой ΔpH характеризовалась интервалом значений от -0,326 до -0,453, среднее значение составило -0,383.

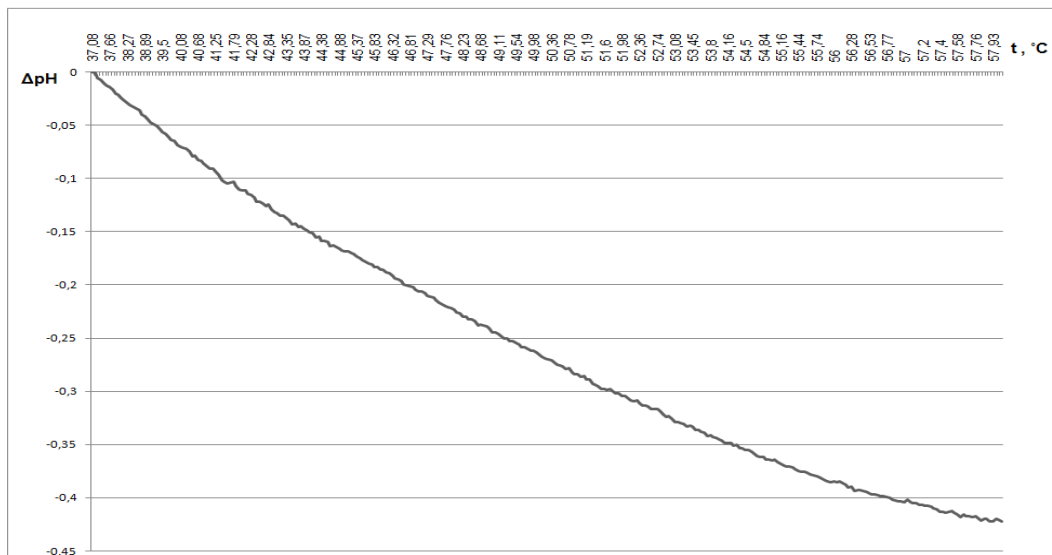


Рис. 1. Типичная термограмма эритроцитарной взвеси больных ХОБЛ (диапазон изменения температур измерения 37-58 °С)

Последующая инкубация эритроцитарной взвеси при 58 °С в течение 20 минут выявила вариабельность характера изменений рН. Зафиксированы два основных типа термограмм (рисунки 2 и 3).

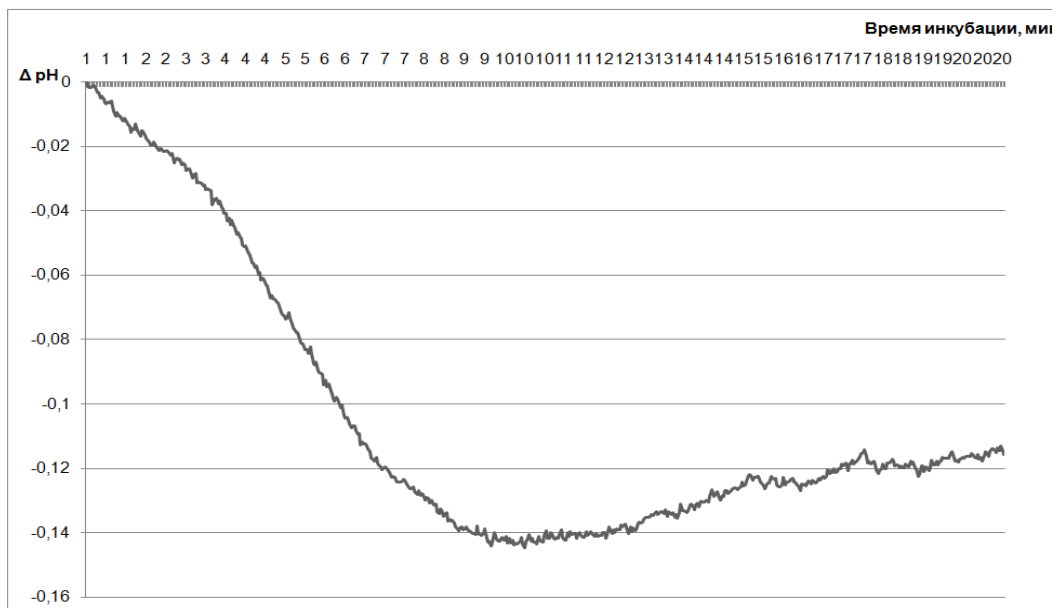


Рис. 2. 1 тип термограммы эритроцитарной взвеси больного ХОБЛ (инкубация при 58 °С в течение 20 минут)

Термограмма первого типа: снижение значения ΔpH в среднем до $-0,15$ с последующей отчетливой тенденцией увеличения значения к 20 минуте инкубации (рисунок 2). Такой тип термограмм эритроцитов наблюдался у больных как бронхитического, так и смешанного типов.

Среднее минимальное значение ΔpH при втором типе термограммы составляет $-0,167$ относительно контрольной точки начала измерения при $t = 58$ °C и регистрируется в пределах 9 – 10 минуты измерения (рисунок 3). Особенностью этого типа термограмм является отсутствие тенденции к увеличению ΔpH к 20 минуте инкубации. Такой тип термограмм эритроцитов наблюдался у больных как бронхитического, так и смешанного типов.

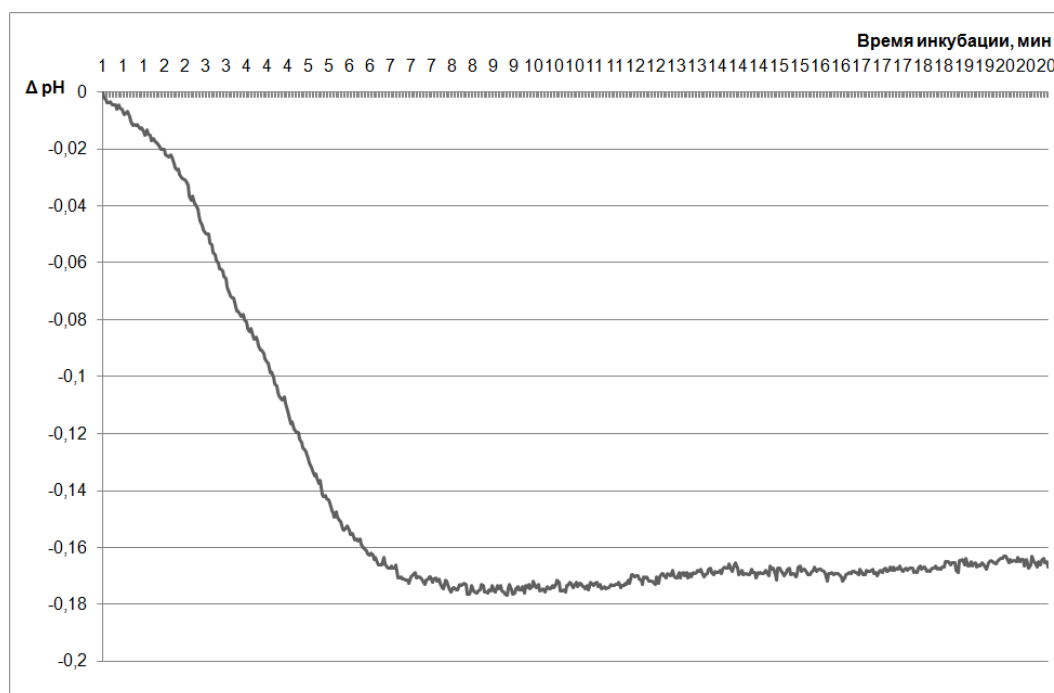


Рис. 3. 2 тип термограммы эритроцитарной взвеси больного ХОБЛ (инкубация при 58 °C в течение 20 минут)

Следовательно, полученные нами данные показали наличие различий скорости релаксации протонов и ионогенных групп, определяющих изменение pH при термоиндукции эритроцитов крови больных ХОБЛ, при этом не было выявлено прямой взаимосвязи между характером термограммы и типом ХОБЛ. Обращают на себя внимание различия изменения зарядового баланса эритроцитов в условиях инкубации при 58 °C в течение 20 минут.

Обсуждение результатов

В нормальных условиях эритроциты несут на поверхности отрицательный заряд. Величина этого интегрального заряда зависит от качественных и количественных характеристик липидного компонента мембран и сиаловых кислот [12]. Также заряд эритроцитов определяется состоянием их метаболических процессов. На устойчивость клеток крови к термоиндукции влияет соотношение димеров и тетрамеров спектрина [13].

При нагревании эритроцитов возникают следующие явления: образуются липидные поры [14], нарушается липидная асимметрия, особенно выраженная при активации перекисного окисления липидов. Исследованиями Sukanya и соавт. показано активация перекисного окисления и увеличение доли насыщенных жирных кислот в мембранах эритроцитов крови больных ХОБЛ [15].

Образование карбонильных производных в мембранах эритроцитов может влиять на интегральный заряд [11]. Torres-Ramos YD et al. обнаружили аккумуляцию карбонильных производных в препаратах мембран эритроцитов крови больных ХОБЛ [16].

При термоиндукции эритроцитов больных ХОБЛ в диапазоне от 37-58°C был обнаружен однопольный характер изменения термограммы: монотонно убывающая зависимость. Отрицательное значение ΔpH ассоциировано с повышенным высвобождением протонов. Источником протонов в данном случае могут быть окисление гемоглобина [17], избыточное образование лактата, нарушение регенерации адениловых нуклеотидов. Отсутствие транзиции свидетельствует о глубоких перестройках мембраны эритроцитов и о нарушении связи с компонентами цитоскелета.

На наш взгляд, 2 типа термограмм, регистрируемые при инкубации эритроцитов в течение 20 минут при 58 °С, определяются прежде всего состоянием анионообменников. В пользу этого предположения свидетельствуют результаты, демонстрирующие снижение функции анионообменника АЕ1 в эритроцитах крови больных при прогрессировании ХОБЛ [16].

От заряда эритроцитов зависят такие важные характеристики как форма клетки и её объем [18]. Заряд эритроцитов во многом определяет их стабильность, деформабильность и способность к обратимой агрегации. Изменение заряда эритроцитов создает условия для деструкции эритроцитов, особенно при деформационном стрессе.

Выводы. Таким образом, нашим исследованием установлен тренд нарушений зарядового баланса эритроцитов крови больных с различными клиническими формами ХОБЛ. Вместе с этим нет достаточных данных для объяснения того, что динамика изменений зарядового баланса эритроцитов крови больных не коррелирует с клинической формой ХОБЛ, что предполагает проведение дальнейших исследований.

Примечания:

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) (2007) Available from: <http://www.goldcopd.org/>.

2. Реологические и морфологические показатели крови в оценке тяжести течения и эффективности лечения бронхолегочных и сердечно-сосудистых заболеваний /О.Н.Ветчинникова, Г.В.Плаксина, Р.В. Горенков, Н.Г. Морозова // Гематология и трансфузиология. 2000. №5. С. 29-33

3. Цыбжитова Э.Б. Морфофункциональная характеристика периферического звена эритрона больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких в динамике лечения. Автореф. канд. мед. наук. Москва, 2010. 25 с.

4. Привалова Е.В., Вавилова Т.В., Кузубова Н.А. Морфологические характеристики эритроцитов у курильщиков с хронической обструктивной болезнью легких // Пульмонология. 2008. №6. С. 48-52.

5. Привалова Е.В., Вавилова Т.В., Кузубова Н.А. Лабораторная оценка циркулирующего пула эритроцитов у больных хронической обструктивной болезнью легких и курильщиков. // Болезни органов дыхания. 2009. №1. С. 46-53.

6. Мишина Н.А. Структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов крови у больных ХОБЛ с выраженным эритроцитозом // Аспирантский вестник Поволжья. 2010. № 7-8. С. 64-69.

7. Цыбжитова Э.Б. Сарычева Т.Г., Попова О.В. Электрофоретическая подвижность эритроцитов у больных с хроническими заболеваниями легких // Клиническая лабораторная диагностика. 2008. №9. С. 74.

8. Чучалин А.Г. Клинические рекомендации. Пульмонология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 240 с.

9. Клинические рекомендации. Стандарты ведения больных. Выпуск 2.-М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. С. 221-226.

10. Физико-химические свойства крови больных с хронической почечной недостаточностью / А.Е. Громов, А.И. Куликова Г.Д. Шостка и др. // Вопросы медицинской химии. 1982. №6. С. 20-24.

11. Физико-химические свойства эритроцитов крови больных гломерулонефритом и пиелонефритом, ассоциированными с артериальной гипертензией /Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Колесникова Е.А., Клюев Д.А., Танкибаева Н.У.// Фундаментальные исследования. 2011. №11. С. 74-77

12. Электрические параметры и структура мембран эритроцитов при диффузных заболеваниях печени /С.А. Курилович, М.В. Кручинина, В.М. Генералов и др. // РЖГГК. 2009. Т.19. №2. С.30-36.

13. Ralston G.B., Dunbar J.C. Salt and temperature-dependent conformation changes in spectrin from human erythrocyte membranes// Biochimica et Biophysica Acta. 1979. Volume 579, Issue 1. P. 20-30.

14. Ivanov I., Benov L. Thermohaemolysis of human erythrocytes in isotonic NaCl/sucrose media during transient heating //Journal of Thermal Biology. -1992.- V. 17, Issue 6. P. 381-389.

15. Sukanya Gangopadhyay, Vannan Kandi Vijayan, Surendra Kumar Bansal Lipids of Erythrocyte Membranes of COPD Patients //A Quantitative and Qualitative Study. 2012. Vol. 9, No. 4. P. 322.

16. RBC membrane damage and decreased band 3 phospho-tyrosine phosphatase activity are markers of COPD progression /Torres-Ramos YD, Guzman-Grenfell AM, Montoya-Estrada A, et al. // Front Biosci. 2010. 1,2. P. 1385-1393.

17. Баширова Р.М., Гареев Е.М., Киреева И.А. Роль гемоглобина в регуляции электрокинетических характеристик и объема эритроцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1998. № 7. С. 49-51.

18. Муравлёва Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Клюев Д.А., Колесникова Е.А., Демидчик Л.А., Калина А.С. Физико-химические параметры эритроцитов в условиях термоиндукции. Миниобзор // Современные проблемы науки и образования. 2011. № 4; URL: www.science-education.ru/98-4741

УДК 61: 577.3

Сравнительная характеристика зарядового баланса эритроцитов больных с хронической обструктивной болезнью легких

¹ Лариса Евгеньевна Муравлёва

² Вилен Борисович Молотов-Лучанский

³ Дмитрий Анатольевич Клюев

⁴ Евгения Александровна Колесникова

¹⁻⁴ Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан
Караганда, ул. Гоголя, 40, 100008

¹ Доктор биологических наук, профессор
E-mail: lem2403@mail.ru

² Доктор медицинских наук, профессор
E-mail: vilen53@mail.ru

³ Кандидат медицинских наук, доцент
E-mail: mythrandir79@mail.ru

⁴ преподаватель
E-mail: kolesnikova.evgenya@gmail.ru

Аннотация. Целью исследования явилось изучение зарядового баланса эритроцитов крови больных с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) бронхитического и смешанного типов. При инкубации эритроцитов крови больных ХОБЛ в диапазоне 37-58°С. наблюдался сходный тренд изменения рН эритроцитов. Термограмма представляла монотонно убывающую кривую, Δ рН менялось от -0,326 до -0,453, среднее значение составило -0,383. При последующей инкубации эритроцитарной взвеси при температуре 58°С в течение 20 минут зафиксировано 2 основных типа термограмм в зависимости от степени дыхательной недостаточности. Обсуждаются возможные механизмы нарушения зарядового баланса эритроцитов крови у больных ХОБЛ.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких; зарядовый баланс; эритроциты.