

8. Incidence of clinically diagnosed vertebral fractures: a population-based study in Rochester, Minnesota, 1985–1989 / C. Cooper [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* — 1992. — № 7. — P. 221–227.
9. Underdiagnosis of vertebral fractures is a worldwide problem: the IMPACT study / P. D. Delmas [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* — 2005. — Vol. 20, № 4. — P. 557–563.
10. Enhanced prediction of fracture risk combining vertebral fracture status and BMD / E. S. Siris [et al.] // *Osteoporos Int.* — 2007. — Vol. 18. — P. 761–770.
11. Vertebral fracture assessment (VFA) with a densitometer predicts future fractures in elderly women unselected for osteoporosis / E. V. McCloskey [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* — 2008. — Vol. 23. — P. 1561–1568.
12. Lymphocytes and synovial fluid fibroblasts support osteoclastogenesis through RANKL, TNF- α , and IL-7 in an in vitro model derived from human psoriatic arthritis / S. Colucci [et al.] // *J. Pathol.* — 2007. — Vol. 212. — P. 47–55.
13. Tumor necrosis factor – related apoptosis – inducing ligand and osteoprotegerin serum levels in psoriatic arthritis / L. C. Hofbauer [et al.] // *Rheumatology.* — 2006. — Vol. 45. — P. 1218–1222.
14. *Bonnick, S. L.* Bone densitometry for technologists / S. L. Bonnick // Humana press, Totowa, New Jersey. — 2006. — P. 437.
15. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique / H. K. Genant [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* — 1993. — Vol. 8. — P. 1137–1148.

Поступила 21.05.2013

УДК 616.155.1 – 074/078:616.9- 036.86

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РЕЦИДИВИРУЮЩИХ ИНФЕКЦИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

С. И. Вершинина, И. А. Новикова, В. В. Железко

Гомельский государственный медицинский университет

В статье представлены результаты оценки структурно-функциональных свойств эритроцитов у 63 пациентов с рецидивирующими инфекциями (герпес-вирусная инфекция, фурункулез, инфекции верхних дыхательных путей) в период ремиссии заболевания. Обнаружено увеличение по сравнению со здоровыми лицами показателей сорбционной способности и активности перекисного окисления липидов мембран эритроцитов, выявлена зависимость показателей сорбционной способности эритроцитов от содержания в них конечных продуктов окисления нейтральных липидов.

Ключевые слова: хронические рецидивирующие инфекции, эритроциты, структурно-функциональные свойства.

STRUCTURAL FUNCTIONAL PROPERTIES OF ERYTHROCYTES IN RECURRENT INFECTIONS OF DIFFERENT ETIOLOGY

S. I. Vershinina, I. A. Novikova, V. V. Zhelezko

Gomel State Medical University

The article presents the results of assessment of the structural functional properties of erythrocytes in 63 patients with recurrent infections (herpetic infection, furunculosis, infections of the upper respiratory tract) in remission of the disease. The study revealed an increase in the indicators of sorption capacity and the activity of lipid peroxidation of erythrocyte membranes, as well as the dependence of the indicators of erythrocyte sorption capacity and on their content of the final products of neutral lipid oxidation.

Key words: chronic recurrent infection, erythrocytes, structural functional properties.

Введение

Исследование свойств эритроцитов вызывает значительный интерес в связи с тем, что их изменение является отражением активности протекающих в организме метаболических процессов, а сами эритроциты — это удобный биологический материал [1]. Современными исследованиями показано участие эритроцитов в развитии и прогрессировании воспалительных процессов различной этиологии, что опосредуется способностью их мембраны к фиксации чужеродных антигенов (вирусы и бактерии), иммуноглобулинов, компонентов комплемента и иммунных комплексов [2, 3]. В связи с этим изучение параметров структурно-функционального статуса эритроцитов как потенциальных индикаторов, характеризующих течение рецидивирующих инфекций, является актуальным.

Цель исследования

Определить характер и степень изменений структурно-функциональных свойств мембран эритроцитов при часто рецидивирующих инфекциях.

Материалы и методы

Обследовано 63 пациента в возрасте от 20 до 50 лет с часто рецидивирующими инфекциями (более 4–6 раз в год) различной этиологии, из них 32 пациента с рецидивирующей герпетической инфекцией (РГИ), 16 — рецидивирующим фурункулезом (РФ), 15 — с рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей (РИВДП). Диагноз ставили на основании анамнеза, объективного осмотра, лабораторных методов исследования. Продолжительность заболевания варьировала от 1 до 20 лет. Пациенты были госпитализированы

в отделение иммунопатологии и аллергологии ГУ «РНПЦ РМ и ЭЧ» (г. Гомель) для проведения плановой иммунокоррекции и на момент обследования находились в стадии клинической ремиссии заболевания. В исследование не включались пациенты с сердечно-сосудистой патологией и сахарным диабетом в анамнезе, ВИЧ-инфекцией. Контрольную группу составили 36 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту.

Материалом для исследования служили эритроциты гепаринизированной венозной крови, трижды отмытые в 0,9 % растворе хлорида натрия.

В качестве показателей структурно-функционального состояния мембран эритроцитов определяли общую сорбционную способность эритроцитов (ССЭ), агрегационную способность, интенсивность свободнорадикального окисления. Все исследования проводили до назначения медикаментозной терапии.

Общую сорбционную способность эритроцитов определяли по степени удержания витального красителя — метиленового синего [4]. Оценивали разность концентраций красителя (0,0025 % раствора метиленового синего) до и после инкубации с эритроцитами по изменению оптической плотности исходного раствора и надосадочной жидкости при длине волны 630 нм. Результат рассчитывали по формуле:

$$ССЭ = 100 - 100 C_2 / C_1,$$

где ССЭ — сорбционная способность эритроцитов в % поглощенного красителя;

C_1 — оптическая плотность раствора до инкубации с эритроцитами в ед. экстинкции;

C_2 — оптическая плотность раствора после инкубации с эритроцитами, ед. экстинкции.

Агрегационную способность эритроцитов оценивали оптическим методом на агрегометре АР 2110 фирмы «Солар» (Беларусь) в режиме АР [5]. В качестве индукторов агрегации использовали водный 0,05 % раствор альцианового синего и 0,002 М раствор эпинефрина гидротартрата. Отмытые эритроциты ресуспендировали в забуференном физиологическом растворе (рН = 7,4) и стандартизировали по коэффициенту светопропускания 90 ± 5 %. Оценивали максимальную степень агрегации (МАХ, %); время, соответствующее максимальной степени агрегации (Т, с); скорость агрегации за первые 60 с после добавления индуктора (V, %/мин).

Интенсивность свободнорадикального окисления оценивали по содержанию продуктов ПОЛ в эритроцитах спектрофотометрически с раздельной регистрацией липопероксидов в гептановой и изопропанольной фазах по методике И. А. Волчегорского [6]. Определяли содержание первичных (диеновые конъюгаты — ДК), промежуточных (сопряженные триены —

СТ) и конечных (основания Шиффа — ОШ) продуктов ПОЛ. Рассчитывали соотношение экстинкции — E232/E220 (ДК), E278/E220 (СТ), E400/E220 (ОШ); результаты выражали в единицах индексов окисления (е.и.о.). Необходимость использования 2 фаз вызвана особенностями экстрагирования: в гептан экстрагируются в основном нейтральные липиды, а в изопропанол — фосфолипиды.

Статистический анализ проводился с использованием непараметрических методов статистики — критерия U Манн-Уитни, корреляционного анализа Спирмена. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (25; 75 %). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследования

Показатель ССЭ у обследованных нами пациентов оказался значимо увеличенным по сравнению с контрольной группой (54,3 (49,1; 62,6) у пациентов и 49,0 (44,0; 54,8) у здоровых лиц; $p = 0,02$). Изменения были максимально выражены у пациентов с РИВДП (55,7 (51,3; 58), $p = 0,04$ относительно пациентов с РФ) и РГИ (51,4 (45,9; 57), $p = 0,025$ относительно пациентов с РФ). У пациентов с РФ значимых отличий от значений здоровых лиц не выявлялось.

Известно, что часто рецидивирующие инфекции ассоциированы с постоянной персистенцией возбудителя. При этом как сами возбудители, так и их продукты, а также медиаторы воспаления способны вызывать дезорганизацию плазматических мембран эритроцитов [3, 7]. Описано как увеличение проницаемости мембран эритроцитов, сопровождающееся повышением их сорбционной способности, так и повышенная «жесткость» мембраны, приводящая к снижению ССЭ, при воспалительных процессах в зависимости от их тяжести и стадии заболевания. На этапе хронизации воспалительных процессов, как правило, формируется повышение ССЭ [3, 8], что в определенной мере согласуется с нашими результатами.

Известно, что в основе конформационных изменений эритроцитарной мембраны при инфекционно-воспалительных процессах может лежать активация процессов свободнорадикального окисления [3, 7, 9]. В связи с этим нами был проведен анализ параметров ПОЛ эритроцитов у пациентов с рецидивирующими инфекциями (таблица 1).

Как видно из данных таблицы 1, у пациентов повышена по сравнению со здоровыми лицами интенсивность пероксидации нейтральных липидов (значимое увеличение содержания СТ в гептановой фазе экстракта эритроцитов ($p = 0,007$), тенденция к увеличению ОШ), а также фосфолипидов (увеличение концентрации СТ ($p = 0,02$) и ОШ ($p = 0,0001$) в изо-

пропанольной фазе экстракта). Активация процессов липопероксидации при рецидивирующих инфекциях вне обострения и макси-

мальная чувствительность параметров содержания промежуточных и конечных продуктов ПОЛ отмечалась и другими авторами [8, 9].

Таблица 1 — Параметры ПОЛ эритроцитов у пациентов с рецидивирующими инфекциями

Параметры липопероксидации	Здоровые лица, n = 40	Пациенты с рецид. инфекциями, n = 68
Пероксидация нейтральных липидов (гептановая фаза)		
ДК, е.и.о.	0,686 (0,601; 0,784)	0,914 (0,584; 1,081)
СТ, е.и.о.	0,285 (0,235; 0,329)	0,556 (0,282; 0,872) *
ОШ, е.и.о.	0,032 (0,016; 0,030)	0,056 (0,019; 0,059)
Пероксидация фосфолипидов (изопропанольная фаза)		
ДК, е.и.о.	0,780 (0,731; 0,840)	0,808 (0,665; 0,959)
СТ, е.и.о.	0,371 (0,313; 0,481)	0,506 (0,369; 0,590) *
ОШ, е.и.о.	0,021 (0,015; 0,026)	0,085 (0,034; 0,076) *

* Различия значимы при сравнении со здоровыми лицами ($p < 0,05$).

Следует отметить, что между значениями ССЭ и показателями ПОЛ отмечалась отрицательная взаимосвязь средней силы, значимая, однако, только для конечных продуктов окисления нейтральных липидов (ОШ гептановой фазы) ($r_s = -0,46$, $p = 0,01$). Аналогичная взаимосвязь обнаруживалась и в контрольной группе ($r_s = -0,42$, $p = 0,008$).

Агрегационные свойства эритроцитов являются одним из проявлений их функциональной активности и обуславливают участие этих клеток в удалении продуктов метаболизма и транспорте биологически активных веществ [3, 10, 11]. Мы исследовали способность эритроцитов к агрегации в ответ на действие 2-х индукторов с различным механизмом действия — адреналина и альцианового синего. Известно, что адреналин (мы использовали синтетический аналог адреналина — эpineфрина гидротартрат) стимулирует агрегацию эритроцитов через экспрессирующиеся на них адренорецепторы [11, 12]. Последние, как известно, участвуют в регуляции активности фосфолипаз и интенсивности процессов ПОЛ в мембранах эритроцитов [12].

Альциановый синий непосредственно воздействует на гликокаликс эритроцитов, вызывая его дестабилизацию и приводя к снижению отрицательного заряда, в результате чего электростатическое отталкивание снижается и происходит склеивание клеток в агрегаты [13, 14]. Изменение агрегационных свойств эритроцитов, стимулированных альциановым синим, характерно для метаболических расстройств [5].

У обследованных нами пациентов не выявлено значимых отличий по параметрам агрегации эритроцитов в ответ на различные индукторы в сравнении со здоровыми лицами. Однако мы обратили внимание на значительную гетерогенность значений показателей внутри группы пациентов. Так, степень агре-

гации эритроцитов, индуцированная эpineфрином, у пациентов колебалась в пределах 11,0–160,5 %, тогда как у здоровых лиц этот диапазон составил 22,9–42,8 %. Аналогичные особенности отмечались и по степени агрегации, индуцированной альциановым синим. Разброс значений у пациентов и доноров составил 18,4–58,9 % и 23,9–34,0 % соответственно.

Индивидуальный анализ продемонстрировал, что при стимуляции эpineфрином значения максимальной степени агрегации (МАХ) были повышены у 27 пациентов (43 %), снижены у 21 пациента (33 %), а в 15 случаях (24 %) соответствовали нормальным значениям. Аналогично распределялись значения МАХ, стимулированной альциановым синим: 48, 30 и 22 % соответственно. Интересно отметить, что у большинства пациентов с РФ наблюдалось повышение значений МАХ (56 и 69 % в ответ на адреналин и альциановый синий соответственно), тогда как в группах с РГИ и РИВДП снижение и увеличение параметров агрегации встречалось с одинаковой частотой. Полученные данные послужили основанием для анализа значений агрегации эритроцитов отдельно у пациентов вирусной (РГИ), бактериальной (РФ) и смешанной этиологии (РИВДП) (таблица 2).

Как видно из данных таблицы 2, параметры агрегации эритроцитов, стимулированных адреналином, у пациентов всех обследованных групп не отличались от контрольных значений. В тесте с альциановым синим выявлено повышение максимальной степени агрегации (МАХ) у пациентов с РФ и РИВДП ($p < 0,001$; $p = 0,02$ соответственно), но не у пациентов с РГИ. Время агрегации увеличивалось во всех обследованных группах, тогда как скорость агрегации у пациентов с РГИ снижалась ($p = 0,02$).

Вероятно, использование альцианового синего в качестве индуктора агрегации эритро-

роцитов у пациентов рецидивирующими инфекциями является более предпочтительным, чем адреналина. В то же время между значе-

ниями МАХ в ответ на альциановый синий и адреналин обнаружена тесная корреляционная связь ($r = 0,9$, $p < 0,001$).

Таблица 2 — Параметры агрегационной способности эритроцитов у пациентов с хроническими рецидивирующими инфекциями в зависимости от этиологии воспалительного процесса

Параметры агрегации	Здоровые лица, n = 40	Пациенты с РГИ, n = 33	Пациенты с РФ, n = 16	Пациенты с РИВДП, n = 15
Агрегация эритроцитов, индуцированная эпинефрином				
Максимальная степень, %	43,07 (30,5; 51,3)	39,1 (23,0; 96,2)	57,5 (27,2; 79,4)	46,4 (28,2; 69,3)
Время, мин	4,6 (2,2; 7,0)	2,35 (1,08; 7,0)	2,9 (0,53; 4,46)	1,1 (0,2; 4,3)
Скорость, %/мин	55,0 (40,4; 69,6)	70,2 (39,6; 105,4)	75,1 (41,8; 99,0)	47,6 (44,6; 78,8)
Агрегация эритроцитов, индуцированная раствором альцианового синего				
Максимальная степень, %	32,5 (27,4; 37,1)	31,3 (22,5; 41,3)	37,04 (25,6; 46,0)*	45,0 (39,8; 46,0)*
Время, мин	5,2 (3,5; 7,5)	6,4 (5,09; 8,3)*	6,3 (4,4; 8,5) *	7,4 (6,2; 8,5) *
Скорость, %/мин	39,7 (35,2; 45,2)	35,6 (32,3; 39,5)*	37,1 (32,3; 41,8)	36,7 (34,7; 40,3)

* Различия значимы при сравнении со здоровыми лицами ($p < 0,05$).

Следует отметить, что предполагаемая нами ассоциация между степенью агрегации эритроцитов и их сорбционной активностью (МАХ ↔ ССЭ) оказалась значимой только у здоровых лиц ($r_s = -0,35$, $p = 0,02$ при индукции агрегации альциановым синим и $r_s = -0,37$, $p = 0,02$ при индукции эпинефрином). У обследованных пациентов такие взаимосвязи отсутствовали, что, возможно, является одним из проявлений процессов дезорганизации мембран эритроцитов [3, 15]. Нами не выявлено также взаимосвязей параметров агрегации эритроцитов с активностью ПОЛ, наличие которых отмечается в ряде публикаций [7, 15]. Вероятной причиной таких расхождений является использование различных методических подходов для оценки агрегации эритроцитов и ПОЛ, и различия по характеру изучаемых воспалительных процессов.

Выводы

1. У пациентов с часто рецидивирующими инфекциями различной этиологии в стадии клинической ремиссии выявлено увеличение относительно контрольных значений показателей сорбционной способности и активности ПОЛ мембран эритроцитов. Обнаружена взаимосвязь показателей сорбционной способности эритроцитов и содержания в них конечных продуктов окисления нейтральных липидов (ОШ), значимая как у пациентов, так и у здоровых лиц.

2. Использование альцианового синего в качестве индуктора агрегации эритроцитов у пациентов с рецидивирующими инфекциями является более предпочтительным, чем адреналина и позволяет выявить повышение максимальной степени агрегации (МАХ) у пациентов с рецидивирующим фурункулезом и рецидивирующими инфекциями верхних дыхательных путей, но не у пациентов с рецидивирующей герпетической инфекцией.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Каптохин, Л. Н. Реологические свойства эритроцитов. Современные методы исследования / Л. Н. Каптохин // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. — 1995. — Т. 81, № 6. — С. 122–129.
2. Костяев, А. А. Влияние различных условий и сроков хранения эритроцитов на показатель их бактериофиксирующей активности / А. А. Костяев, А. Г. Ивонин, В. А. Оборин // Гематология и трансфузиология. — 2009. — Т. 54, № 6. — С. 45–47.
3. Типовые изменения эритроцитов при хроническом воспалении / Е. А. Степовая [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 2004. — Т. 137, № 1. — С. 66–70.
4. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А. А. Тогайбаев [и др.] // Лаб. дело. — 1988. — № 9. — С. 22–24.
5. Изучение агрегации эритроцитов на лазерном агрегометре / А. А. Спасов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2000. — № 5. — С. 21–23.
6. Волчегорский, И. А. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И. А. Волчегорский, А. Г. Налымов // Вопр. мед. химии. — 1989. — Т. 35, № 1. — С. 127–130.
7. Новицкий, В. В. Структурная дезорганизация мембраны эритроцитов как универсальная типовая реакция целостного организма при болезнях дисрегуляции (глава в монографии) / В. В. Новицкий // Патология дисрегуляции / под ред. акад. Г. Н. Крыжановского. — М.: Медицина, 2002. — С. 395–406.
8. Структурно-функциональные свойства эритроцитов в условиях обострения хронического сальпингоофорита / А. А. Конопля [и др.] // Международный журнал по иммунореабилитации. — 2010. — Т. 12, № 2. — С. 136.
9. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней / А. П. Шепелев [и др.] // Вопросы медицинской химии. — 2000. — Т. 46, № 2. — С. 110–116.
10. Показатели обратимой агрегации эритроцитов периферической крови у больных с острой пневмонией / В. В. Новицкий [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2001. — № 6. — С. 36–37.
11. Морозов, Ю. А. Агрегация эритроцитов: роль в патологии и пути профилактики: пособие для врачей / Ю. А. Морозов, М. А. Чарная, И. И. Деметьев. — М., 2010. — 12 с.
12. Мардарь, А. И. Цитохимический способ определения катехоламинов в эритроцитах крови и его диагностическое значение / А. И. Мардарь // Вестник Сумского государственного университета. — 1994. — № 2. — С. 94–97.
13. Neu, B. Cell-cell affinity of senescent human erythrocytes / B. Neu, S. O. Sowemimo-Coker, H. J. Meiselman // Biophys. J. — 2003. — № 85 (1). — P. 109–112.
14. Basic phenomena of red blood cell rouleaux formation / H. Bumler [et al.] // Bioreology. — 1999. — № 36 (5–6). — P. 439–442.
15. Молекулярные нарушения мембран эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы / В. В. Новицкий [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. — 2006. — № 2. — С. 62–67.

Поступила 04.06.2013