

СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ СИСТЕМНЫМИ ВАСКУЛИТАМИ

М.М.Фазлыев, БГМУ, Уфа

Резюме

Цель. Изучить функциональные и структурно-метаболические изменения эритроцитов, влияющие на реологические свойства крови и систему гемостаза у больных системными васкулитами. **Материал и методы.** Обследовано 75 больных геморрагическим васкулитом (ГВ) и 15 больных микроскопическим полиангиитом (МПА). Определяли активность транспортных АТФаз и уровни продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах эритроцитов, показатели осмотической и кислотной резистентности, по которым судили о стабильности мембран эритроцитов.

Результаты. У больных МПА, ГВ почечной формой и с рецидивирующим течением наблюдалось угнетение Na^+ , K^+ , Ca^{2+} - активируемой АТФазы мембран эритроцитов, увеличение содержания продуктов ПОЛ, нарушение осмотической и кислотной резистентности в эритроцитах, гиперагрегация эритроцитов.

Заключение. Нарушения свойств и функций эритроцитов позволяют оценить выраженность нарушений реологических свойств крови, что дает возможность использовать эти данные для оценки тяжести состояния больных, эффективной терапии и прогнозирования течения заболевания.

Ключевые слова: пурпура Геноха-Шенлейна, микроскопический полиангиит, диссеминированное внутрисосудистое свертывание, эритроцит

Системные васкулиты (СВ) - группа заболеваний, в основе которых лежит генерализованное поражение сосудистой стенки, преимущественно иммунной природы с развитием воспаления и некроза, приводящих к нарушению кровотока в органах и тканях.

Одними из наиболее серьезных смертельных осложнений у больных СВ являются тромбозы [2, 9]. Пусковыми механизмами образования микротромбов являются: повреждение сосудистого эндотелия иммунными комплексами с обнажением субэндотелиальных структур, нарушение синтеза и высвобождения антикоагулянтных и фибринолитических факторов с усилением протокоагулянтных свойств сосудистой стенки, активация тромбоцитов и XIII фактора, высвобождение тканевого тромбопластина и др. [1, 10]. Имеется достаточно работ, в которых исследовались тромбоцитарное и коагуляционное звено гемостаза при СВ [2, 4, 7]. Однако работ по изучению состояния и структурно-метаболических особенностей самых многочисленных клеток крови - эритроцитов, их роли и влияния на общую гемореологию крови при СВ крайне мало [3, 8].

Мы исследовали васкулиты, характеризующиеся преимущественным поражением сосудов микроциркуляторного русла, но с разными патогенетическими механизмами повреждения сосудистой стенки - геморрагический васкулит (ГВ, или пурпура Шенлейна-Геноха), связанный с отложением IgA-комплексов в стенках сосудов [6, 9], и микроскопический полиангиит (МПА), относящийся к некротизирующим васкулитам без иммунных комплексов ("pauci-immune") и связываемый с образованием АНЦА (антинейтрофильных цитоплазматических антител) [16, 17].

Целью исследования явилось изучение функциональных и структурно-метаболических изменений эритроцитов, определение роли эритроцитарного звена гемостаза в формировании нарушений реологии крови и его участие в процессах тромбообразования у больных ГВ и МПА.

Материал и методы

В исследовании включены 75 больных ГВ и 15 больных МПА в возрасте от 15 до 65 лет (средний возраст $36 \pm 12,2$

лет), муж. - 57 и 38 - жен. Контрольную группу составили 20 здоровых лиц, сопоставимых по возрасту и полу с основной группой.

Диагноз ГВ выставлялся на основании классификационных критериев АКР [18]. Пациенты были разделены на группы в зависимости от клинической формы болезни: I-я - 30 с кожной и кожно-суставной формой ГВ; II-я - 20 ГВ с поражением почек; III-я группа - 25 со смешанной формой и рецидивирующим течением ГВ. IV-ю группу составили 15 больных с МПА, диагноз у которых выставлялся в соответствии с определением Chapel Hill Consensus Conference на основании клинической картины, данных иммунологического (выявление п-АНЦА) и морфологического исследования (некротизирующий васкулит микроциркуляторного русла).

Все больные обследовались в остром периоде болезни или во время обострений (рецидивов).

Пациенты ГВ предъявляли жалобы на появление мелкоточечных, местами сливных геморрагических высыпаний (у 97%) на туловище и конечностях, чаще элементы пурпуры располагались на голенях и стопах. Поражение суставов (у 62,6% больных) протекало по типу полиартрита и артралгий. Поражение почек у 15 пациентов заболевание проявлялось мочевым синдромом, уровень протеинурии от 0,066 до $1,65 \text{ g/100 ml}$. У 5 обследованных развился нефротический синдром, протеинурия $3,3 - 6,6 \text{ g/100 ml}$, суточная потеря белка в среднем составляла 4,3 г. Микрогематурия наблюдалась у всех больных, у троих эритроциты покрывали сплошь все поле зрения.

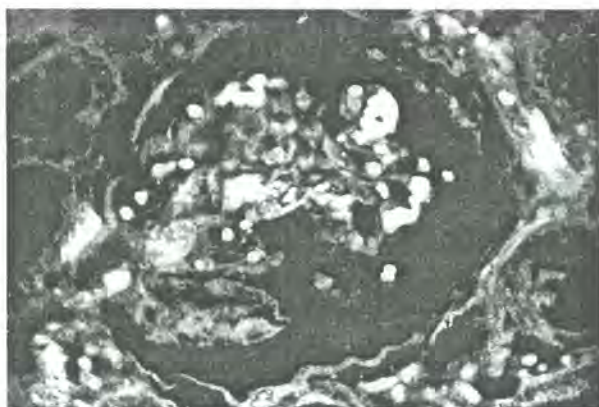
По данным изотопной ренографии у 13 пациентов (65%) выявлено снижение функции почек. У 2 больных в биоптатах почки обнаружена картина мезангиопролиферативного нефрита. При иммуногистохимическом исследовании биоптатов кожи и почек выявлялись фиксированные ИК, содержащие IgA и C3 фракцию комплемента (рис. 1).

У больных с хронической рецидивирующей формой ГВ давность заболевания составляла от 7 месяцев до 7-10 и более лет. Пациенты в течение года по 2-3 раза находились на стационарном лечении в связи с рецидивированием кожного, суставного, абдоминального синдромов, появлением микрогематурии.

Больных с МПА беспокоили лихорадка (66,6%), поли-

Рисунок 1

**ОТЛОЖЕНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ (IGA)
В КАПИЛЛЯРАХ КЛУБОЧКА ПОЧКИ**



артралгии (33,3%), одышка (53,3%), кашель с кровохарканием (26,6%), боли в грудной клетке (13%), геморрагии (33,3%), боль в животе и диарея у 4 больных (26,6%). Вовлечение почек выявлялось у 86,6% больных (протеинурия, микро- и макрогематурия, цилиндрурия), почечная недостаточность развилась у 10 (66,6%), поражения кожи - пурпура, язвы, некрозы у 6 пациентов (40%).

Иммунологический маркер МПА п-АНЦА были обнаружены у 13 больных. Двоим диагноз был выставлен по совокупности клинических и микроскопических исследований (некротизирующий васкулит мелких сосудов без гранулем, поражение легких и почек).

Изучение эритроцитов включало определение их объема, содержания и концентрации НВ в одном эритроците, ширины кривой распределения эритроцитов. Структурно-метаболические особенности эритроцитов определяли по уровню продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) - ТБК - реагирующих соединений (по И.Д.Стальной, Т.Г.Гаришвили, 1987); осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ) (по методике Н.Л. Васильевской, 1955, Waugh, 1938, Cohen 1958); кислотную резистентность эритроцитов (КРЭ) (по Н.И. Гительзону, И.А. Терскову 1959); хемилюминесценцию (ХЛ) цельной крови определяли на хемилюминометре Хл-003 (Россия). Проводили определение активности транспортных аденозинтрифосфатаз: натрий, калий и кальций активируемой аденозинтрифосфатазы (Na+K+Ca++-АТФаза), магний-зависимой аденозинтрифосфатазы (Mg++-АТФаза) - оценивали по степени гидролиза АТФ под действием препарата мембран эритроцитов в инкубационных средах соответствующего состава.

Для изучения эритроцитарного звена гемостаза определяли: параметры агрегации эритроцитов: процент минимальной и максимальной агрегации, наличие второй волны

агрегации, коэффициент дезагрегации [5]. О состоянии сосудов микроциркулярного русла у больных ГВ судили по данным иммуногистологического изучения биоптатов кожи.

Результаты и обсуждение

Как видно из таблицы 1, активность Na⁺, Ca⁺, K⁺ активируемой АТФазы мембран эритроцитов снижалась у больных всех групп, однако достоверное по сравнению с контролем снижение было выявлено у больных ГВ с поражением почек, а также при хронической рецидивирующей форме ГВ и МПА, что указывает на имеющиеся глубокие изменения метаболических процессов в эритроцитах этих больных. Более всего была угнетена активность Na⁺K⁺-АТФазы. Так, при кожно-суставной форме активности Na⁺K⁺-АТФазы снизилась только на 12%, тогда как при ГВ с поражением почек - на 21%. Возможно, транспорт ионов Na и K через мембрану эритроцитов связан с развитием дефицита АТФаз в них.

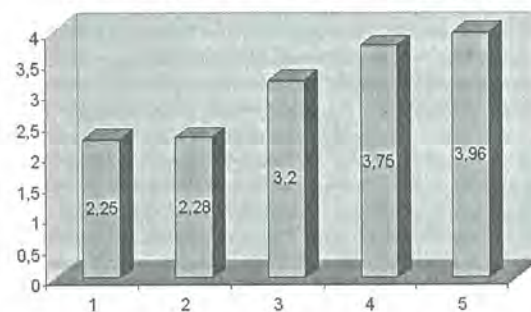
По мнению С.А.Сторожок с соав. [12] изменение концентрации основных ионов в эритроцитах приводит к серьезным поломкам цитоскелета, что существенно сказывается на деформируемости клеток красной крови, снижая их способность к продвижению и увеличивая склонность к образованию сгустка.

Значительную роль в механизмах нарушений реологии крови при повреждении эндотелия сосудов играет активация свободнорадикальных процессов [11, 20]. Мы выявили увеличение концентрации конечных продуктов ПОЛ в эритроцитах (ТБК - реагирующих соединений) у всех больных СВ (рис.2).

При СВ выявлена активация ПОЛ, что подтверждается нарастанием концентрации ТБК-реагирующих соединений

Рисунок 2

**СОДЕРЖАНИЕ МАЛОНДИАЛЬДЕГИДА И ДРУГИХ
ТБК-РЕАГИРУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ
(В МКМОЛЬ НА 1 МЛ ЭРИТРОЦИТОВ)**



1 - контроль, 2 - кожно-суставная форма ГВ, 3 - хроническая рецидивирующая форма ГВ, 4 - ГВ с преимущественным поражением почек, 5 - МПА

Таблица 1

АКТИВНОСТЬ ТРАНСПОРТНЫХ АТФАЗ У БОЛЬНЫХ ГВ И МПА (M ± m) (нмоль/мин на 1 мл эритроцитов)

Группы обследованных	Натрий, калий активир. АТФаза	Кальций актив. АТФаза	Магний зависимая АТФаза
Контроль (n=20)	15,8 ± 1,1	38,5 ± 2,2	17,6 ± 0,7
ГВ, кожно-суставная форма (n=30)	15,01 ± 1,5	38,0 ± 3,1	17,2 ± 2,1
ГВ с преимущественным поражением почек (n=20)	12,1 ± 2,2*	35,53 ± 4,5	15,0 ± 2,2
ГВ, смешанная форма с рецидивирующим течением (n=25)	12,5 ± 3,1	36,62 ± 2,2	16,01 ± 1,8
МПА, (n=15)	11,1 ± 2,9*	30,3 ± 3,7*	14,4 ± 2,9

Примечание: * - различия достоверны по сравнению с контролем (p<0,05).

(МДА, кетоальдегиды и другие продукты ПОЛ) в эритроцитах. Максимальную концентрацию этих соединений выявили у больных МПА, а при ГВ – у больных с поражением почек и рецидивирующим течением заболевания (39 и 31%). При кожно-суставной форме ГВ показатели были изменены достоверно по сравнению с контролем (хотя тенденция к увеличению отмечалась и у этих больных, особенно в острый период заболевания).

Кроме ТБК-реагирующих соединений мы регистрировали ХЛ цельной крови, отражающей особенности свободнорадикального окисления. По данным люминол-индуцированной ХЛ светосумма группы контроля составляла $8,92 \pm 3,6$ у.е./мин, в группе с кожно-суставной формой ГВ $11,8 \pm 2,1$ у.е./мин, при поражении почек и рецидивирующим течением от 28 до 63 у.е./мин ($34,2 \pm 4,5$ и $36,7 \pm 5,5$), а у больных МПА в среднем $67,8 \pm 17,1$ у.е./мин, доходя у части больных до 300 у.е./мин и более.

Наличие обратной корреляционной связи между концентрацией продуктов ПОЛ и показателями активности транспортных АТФаз (чем выше показатели активности

фосфолипидного бислоя мембран эритроцитов, а ОРЭ больше связана с цитоскелетами этих клеток. Следовательно, можно предположить, что при ГВ и МПА происходит перестройка как липидного, так и белковых компонентов мембран.

В механизмах развития синдрома повышенной вязкости крови немаловажное значение также отводится увеличению агрегации эритроцитов.

Как видно из табл. 2, у больных ГВ с поражением почек выявлялось значительное повышение процента минимальной агрегации до $12,34 \pm 0,1$ (контроль $6,75 \pm 0,1$) и максимальной агрегации $43,21 \pm 0,2$ (при контроле – $35,18 \pm 0,1$), вторая волна агрегации вообще отсутствовала, коэффициент дезагрегации уменьшился на 50% ($p < 0,05$). Аналогичные изменения были обнаружены у больных с рецидивирующим течением ГВ, достоверное повышение процента минимальной агрегации до $11,19 \pm 0,1\%$ и максимальной до $41,23 \pm 0,03\%$. Вторая волна агрегации не регистрировалась и при этой форме ГВ, коэффициент дезагрегации также уменьшился по сравнению с контролем. Выявленные нами

Таблица 2

АГРЕГАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ БОЛЬНЫХ СВ

Группы обследованных	Параметры агрегабельности эритроцитов больных			
	% миним. агрегации	% макс. агрегации	Коэф. дезагрегации (%)	Вторая волна агрегации (%)
Контроль (n=20)	$6,75 \pm 0,1$	$35,18 \pm 0,1$	$80,9 \pm 0,04$	$38,4 \pm 0,23$
ГВ, кожно-суставная форма (n=30)	$6,81 \pm 1,8$	$36,2 \pm 3,1$	$80,3 \pm 0,4$	$38,1 \pm 0,08$
ГВ с преимущественным поражением почек (n=20)	$12,34 \pm 0,1^*$	$43,21 \pm 0,2^*$	$45,06 \pm 0,14^*$	—
ГВ, смешанная форма с рецидивирующим течением (n=25)	$11,19 \pm 0,1^*$	$41,23 \pm 0,03^*$	$44,08 \pm 0,04^*$	—
МПА (n=15)	$14,65 \pm 0,1^*$	$44,26 \pm 0,11^*$	$41,06 \pm 0,24^*$	—

Примечание: *различия достоверны по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

ПОЛ, тем ниже активность транспортных АТФаз, $r = -0,56$)) позволило сделать заключение о тесной связи процессов ПОЛ и нарушения транспорта ионов в эритроцитах. Происходящее вследствие этих процессов снижение деформабильности и повреждение мембран эритроцитов с разрушением "слабых" клеток крови способствует ухудшению реологических свойств крови, возникновению сдвиг-феномена и развитию стаза в сосудах микроциркуляторного русла.

Физико-химические изменения биомембран эритроцитов сопровождалось снижением ОРЭ на 11-13% у больных с хронической рецидивирующей формой ГВ и поражением почек. В группе больных с кожно-суставной формой среднечеточная хрупкость эритроцитов (СКХ) была умеренно повышенной, но достоверного различия с контролем не выявлено. Максимальный уровень СКХ отмечался в первые 3-7 дней болезни, на которые приходился максимум повреждений клеточной мембраны эритроцитов.

На кислотных эритрограммах у больных с поражением почек и рецидивирующим течением ГВ наблюдалось смещение пика влево, укорочение ширины основания и сокращение времени продолжительности кислотного гемолиза по сравнению с контролем ($p < 0,05$), что свидетельствует о понижении стойкости эритроцитарных мембран к действию ионов H^+ .

При МПА отмечались заметное расширение кривой вправо и влево со снижением эритрограммы, т.е., в крови одновременно присутствовали группы клеток с пониженной и повышенной устойчивостью мембран к действию H^+ ионов, что демонстрировало нарушение их стабильности.

Известно, что КРЭ определяет, в основном, состояние

факты свидетельствует о значительном ухудшении реологических свойств крови вследствие развития гиперагрегабельности одновременно с крайне низким коэффициентом дезагрегации эритроцитов.

Микроскопически в мазках крови у части больных отмечались "монетные столбики", эритроцитарные агрегаты и фрагментация эритроцитов.

Выявленные нарушения биохимических свойств эритроцитов, их микроструктуры и функций, наряду с активацией процессов ПОЛ, на фоне выраженного иммунного повреждения сосудистой стенки значительно влияют на общее состояние гемореологии, ухудшая ее показатели.

Проведенные нами ранее исследования системы гемостаза также выявили признаки гиперкоагуляции, гиперагрегации и развитие диссеминированного внутрисосудистого свертывания у больных ГВ и МПА [13, 14, 15].

Глубокие нарушения структурно-метаболических свойств, осмотической резистентности, деформируемости, агрегационной функции эритроцитов при МПА и тяжелых формах ГВ (почечной и рецидивирующей) указывают на важную роль в патогенезе этих заболеваний реологических нарушений. Эритроциты, как и тромбоциты, выступают в роли пускового механизма развития тромботических осложнений при СВ, приводящих к ухудшению кровоснабжения органов и тканей. Эти патологические механизмы обязательно необходимо учитывать в комплексной терапии больных.

Выводы

1. В мембранах эритроцитов у больных ГВ с рецидивирующим течением и поражением почек, а также при МПА

наблюдается значительная активация ПОЛ с достоверным увеличением ТБК-положительных соединений и увеличением ХЛ крови (свободнорадикального окисления).

2. У больных ГВ и МПА обнаружено угнетение АТФазной активности (Na, K, Ca-активируемой аденозинтрифосфатазы) и снижение осмотической и кислотной резистентности эритроцитов.

3. При ГВ повышена агрегационная способность эритроцитов, зависящая от клинической формы заболевания (что подтверждается увеличением максимальной и мини-

мальной агрегации эритроцитов, угнетением дезагрегации). Еще более выраженные нарушения отмечены при МПА.

4. Выявленные нарушения состояния эритроцитов, вместе с имеющейся патологией системы гемостаза, ведут к глубоким расстройствам гемокоагуляции при СВ, во многом определяя прогноз и исход заболеваний. Наиболее выраженные изменения, у больных МПА сопровождаются развитием ДВС крови и клиникой тяжелого некротизирующего васкулита с полиорганной недостаточностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. М., Медицина, 1988, 328 с.
2. Гринштейн Ю. И., Ивлиев С. В. Особенности изменения системы гемостаза у больных системными васкулитами с поражением почек. Сборник материалов II Съезда нефрологов России, 18-22 окт. 1999 г., М., 1999, 57-58.
3. Дроздова Т. В. Реологические аспекты нарушений микроциркуляции у больных системной красной волчанкой, ревматоидным артритом и геморрагическим васкулитом. В кн. Клиника, диагностика и лечение микроциркуляторных нарушений при соматических заболеваниях взрослых и детей. Сб. науч. тр., Иваново, 1994, 47-52.
4. Захарова Н. О., Кондурцев В. А., Яковлев О. Г. Особенности гемостаза и гипофизарно-надпочечниковой системы у больных геморрагическим васкулитом пожилого возраста. Клинич. геронтол., 1996, 3, 29-32.
5. Люсов В.А., Богоявлинский О.Р. Модифицированный метод определения агрегационной способности эритроцитов. Клинич. лаборат. диагностика, 1993, 6, 37-38.
6. Мазурин А.В., Цымбал И.Н., Плахута Т.Г. Геморрагический васкулит Шенлейна-Геноха. Тер. архив, 1996, 5, 84-87.
7. Марсагшвили М. А. Пути коррекции нарушений функции гемостаза у больных геморрагическим васкулитом. Дис.к.м.н., М., 1999, 106.
8. Нагаева Т. А. Структурно-метаболический статус эритроцитов периферической крови при геморрагическом васкулите у детей. Дис.к.м.н., Томск, 1997, 154.
9. Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шилкина Н.П. Васкулиты и васкулопатии: Ярославль, Верхняя Волга, 1999, 616 с.
10. Панченко Е., Добровольский А. Тромбозы в кардиологии. Механизмы развития и возможности терапии. Изд. "Спорт и культура.", 1999.
11. Ройтман Е.В., Дементьева И.И., Азизова О.А. и др. Изменения реологических свойств крови и осмотическая резистентность эритроцитов при активации ПОЛ. Тромбоз, гемостаз и реология, 2000, 1, 15-17.
12. Сторожок С.А., Санников А.Г., Захаров Ю.М. Молекулярная структура мембран эритроцитов и их механические свойства. Сборник научных трудов, Тюмень, 1997.
13. Фазлыев М.М. Адгезивно-агрегационные функции тромбоцитов у больных системными васкулитами. Сб. матер. выездной конфер. научн. общества нефрологов России, Уфа, 2001, 46-47.
14. Фазлыев М.М. Иммуногемостазиологические особенности геморрагического васкулита Шенлейна-Геноха. Научно-практич. ревматология, 3, 2001, 124.
15. Фазлыев М.М. Комплексная оценка системы гемостаза у больных системными васкулитами Тромбоз, гемостаз и реология, 2002, 1, 138-142.
16. Ansell B.M., Bacon P.A., Lie J.T., Yazici H. The Vasculitides. London, 1996, 412.
17. Helmchen U. Kneissler U. Prall F. ANCA-assoziierte Formen der Vaskulitis. Verh-Dtsch-Ges-Pathol. 1996, 80, 38-45.
18. Mills J.A., Bloch D.A. et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Henoch-Schonlein purpura. Arthr. Rheum., 1990, 33, 1114-1121.
19. Smith J.B., Ingberman C.M., Silver M.J. Malondialdehyde formation as an indication of prostaglandin production by human platelets. J. Lab. Clin. Med., 1976, 88, 1, 167-172.
20. Serban M.G., Negru T. Antioxidant protection in collagen-vascular diseases. Rom. J. Intern. Med., 1998, 36 (3-4), 245-250.

Поступила 16.04.02

Abstract

M.M. Fazlyev

Structural and metabolic peculiarities of erythrocytes in patients with systemic vasculitis

Objective. To assess of functional, structural and metabolic changes of RBC in patients with systemic vasculitis. To estimate influence of RBC abnormalities on blood viscosity and hemostasis.

Materials and methods. Blood samples of 75 pts with Henoch-Schonlein Purpura (HSP) and 15 pts with microscopic polyarteritis (MPA) were tested.

The levels of ATP transporting enzymes and lipid peroxide oxidation (LPO) in erythrocyte's membranes were assessed. The degree of erythrocyte membrane stability was estimated by test of osmotic and acidic membrane resistance.

Results. Suppression of Na⁺, K⁺, Ca⁺ activated ATP transporting enzyme in pts with MPA and renal form of HSP was found. This group of patients was also characterized by LPO activation, decreased osmotic and their acidic resistance of erythrocytes and their marked hyperaggregation.

Conclusion. The assessment of structural and functional changes of erythrocytes helps to estimate abnormalities of blood viscosity and to adjust management and predict prognosis in pts with systemic vasculitis.

Key words: Henoch-Schonlein purpura (HSP), Microscopic polyangiitis (MPA), disseminated intravascular coagulation (DIC), erythrocyte