

# МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ КАК КРИТЕРИЙ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ И ИСХОДА КРИТИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЙ

*О.Т. Прасмыцкий, В.В. Буйницкая, Е.И. Михневич*

*Белорусский государственный медицинский университет*

Действие агрессивного фактора на организм вызывает вначале местную специфическую реакцию, характерную для каждого из многочисленных факторов агрессии. Фаза постагрессивной реакции одинакова при различных факторах агрессии и начинается стимуляцией гипоталамо-гипофизарной, а через нее — симпатико-адреналовой систем. Специфика клинической картины и физиологических механизмов патологии исчезает. Поэтому в условиях критического состояния пациента реаниматолог обычно пользуется набором тестов, позволяющих судить о клинической ситуации в терминах синдромов. Успешное проведение лечебно-диагностического процесса у критических пациентов требует четкого и динамичного плана действий врача-реаниматолога, что возможно лишь на основе достаточно надежного прогнозирования развития клинической ситуации.

Эритроциты являются индикаторами адренореактивности внутренних органов [4]. Эти клетки активно связывают адреналин, что модулирует работу мембранных каналов и изменяет морфофункциональные свойства клеточной мембраны. Предположено, что изменение таких мембранных свойств, как резистентность к мочевиному гемолизу, деформируемость и морфология красных клеток крови, может отражать тяжесть течения критических состояний, сопровождающихся гиперкатехоламинемией, и прогнозировать их исход.

**Цель** работы — выявление значимости определения осмотической резистентности, деформируемости эритроцитов, морфологической картины крови для прогнозирования исхода критического состояния, корреляция данных с продолжительностью предстоящей жизни пациентов.

**Задачи:**

1. Изучить следующие свойства эритроцитов критических пациентов и здоровых доноров: деформируемость, осмотическую резистентность эритроцитов (ОРЭ), морфологию (степень эхиноцитоза).
2. Сравнить характеристики мембран эритроцитов здоровых доноров, выживших и погибших пациентов.
3. Определить корреляцию морфофункциональных свойств эритроцитов со степенью тяжести, продолжительностью жизни пациентов, прогностическую значимость в отношении исхода критического состояния.

**Материалы и методы.** Исследована 31 проба венозной крови пациентов отделения анестезиологии, интенсивной терапии и реанимации. Пациенты разделены на группы в зависимости от клинического исхода заболевания: в 1-ю группу вошли 10 пациентов, погибших в течение 14-ти сут с момента забора пробы крови; во 2-ю — 21 пациент, выживший в течение 14-ти сут с момента исследования. Оценка тяжести проводилась по шкале АРАСНЕ II, средний балл  $16,10 \pm 3,71$  и  $16,06 \pm 3,62$  в группе умерших и выживших соответственно ( $p > 0,05$ ). В качестве контроля исследовалась кровь здоровых доноров (25 проб).

Для исследования эритроцитов отбирали пробы венозной крови, после центрифугирования трижды проводили отмывание эритроцитов. Для определения резистентности к мочевиному гемолизу использовали метод Бондарева (1990), сущность которого заключается в том, что при помещении взвеси отмывтых эритроцитов в смесь изотонических растворов мочевины и хлористого натрия происходит гемолиз части эритроцитов. Степень гемолиза пропорциональна концентрации мочевины и проницаемости мембран. Для построения кривой мочевинового гемолиза (КМГ) использовали смеси следующих рабочих концентраций изотонических растворов мочевины (0,3M) и NaCl (0,15M) — 50:50, 55:45 и 60:40. Степень гемолиза оценивали на основании определения оптической плотности центрифугата (зеленый светофильтр) и рассчитывали в процентах. Этапоном сравнения служил гемолизат той же пробы крови в изотоническом растворе мочевины (100% гемолиз). Деформируемость эритроцитов определяли по методу Федоровой с соавт. (1986), который основан на определении скорости распространения пятна эритроцитарной взвеси на фильтровальной бумаге со стандартным размером пор по сравнению со скоростью распространения пятна физиологического раствора. Морфология клеток изучалась путем оптической микроскопии и цифровой микрофотографии с подсчетом процентного содержания эхиноцитов в мазке крови.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования осмотической резистентности эритроцитов (таблица) свидетельствуют о том, что ОРЭ пациентов, находящихся в критическом состоянии, достоверно выше ОРЭ здоровых доноров ( $p < 0,05$ ). ОРЭ пациентов, погибших в течение 14-ти сут с момента проведения исследования, достоверно выше ОРЭ выживших ( $p < 0,05$ ).

Таблица

Степень гемолиза эритроцитов группы сравнения, выживших и умерших пациентов в смесях изотонических растворов мочевины и хлорида натрия в соотношении 50:50; 55:45; 60:40

Показатель	Группа исследуемых		
	Группа сравнения (n=25)	Умершие (n=10)	Выжившие (n=21)
Степень гемолиза в р-ре 50:50, % (средн.±SD)	15,86±16,19	3,75±4,07*	9,81±7,33**
Степень гемолиза в р-ре 55:45, % (средн.±SD)	49,28±14,39	8,58±6,97*	28,37±14,0**
Степень гемолиза в р-ре 60:40, % (средн.±SD)	85,19±10,31	22,54±14,82*	52,43±15,59**

Примечание —\*Различия с группой сравнения статистически значимы ( $p < 0,05$ ), \*\*различия с группой сравнения и группой умерших пациентов статистически значимы ( $p < 0,05$ ).

Референтные диапазоны ОРЭ для групп умерших и выживших при измерении процента гемолиза в смесях с соотношением растворов мочевины и NaCl 55:45 и 60:40 не пересекаются. Это позволяет использовать показатель в качестве предиктора смерти исследуемых пациентов. Кроме того, имеется достоверная средней силы отрицательная корреляция между продолжительностью предстоящей жизни (в пределах 2 недель) и уровнем ОРЭ ( $r = 0,65$ ;  $p < 0,05$ ).

Определение резистентности эритроцитов к осмотическому гемолизу широко используется для оценки состояния клеточных мембран организма. При этом ожидаемым эффектом является снижение резистентности под действием повреждающего фактора. Однако при исследовании крови критических пациентов нами выявлено парадоксальное повышение резистентности мембран эритроцитов к мочевиному гемолизу. Повышение ОРЭ можно объяснить доминированием активации альфа-адренорецепторов в условиях гиперкатехоламинемии [3], что повышает активность фосфолипазы A2, кальмодулина и вход  $Ca^{2+}$  в эритроцит, а также компенсаторно увеличивает выход  $K^+$  через  $Ca^{2+}$ -зависимые калиевые каналы [2]. Это модулирует работу мембранных каналов и изменяет морфофункциональные свойства клеточной мембраны.

Различия деформируемости эритроцитов умерших и выживших пациентов статистически недостоверны. Однако имеется достоверная разница между деформируемостью эритроцитов здоровых доноров и пациентов, находящихся в критическом состоянии ( $p < 0,05$ ). Деформируемость эритроцитов пациентов ниже таковой здоровых доноров. Вероятно, снижение деформируемости эритроцитов связано со значительной степенью эхиноцитоза, выявляемой при микроскопии крови критических пациентов [5]. К факторам, повышающим жесткость мембран эритроцитов, относится также увеличение концентрации свободного кальция и выход кальция через  $Ca^{2+}$ -зависимые каналы в условиях повышенной альфа-адреностимуляции [1].

**Заключение.** Изменение таких мембранных свойств, как осмотическая резистентность к мочевиному гемолизу, деформируемость и морфология красных клеток крови, находится в тесной связи со степенью тяжести критических состояний. Универсальность патофизиологических реакций при критических состояниях делает тесты информативными при широком спектре патологий. Поэтому комплексная оценка морфофункциональных свойств мембран эритроцитов позволяет оценить тяжесть критического состояния и прогнозировать его исход вне зависимости от нозологической формы.

#### MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF ERYTHROCYTE MEMBRANES AS A CRITERION OF CRITICAL CONDITIONS SEVERITY AND OUTCOME

*O.T. Prasmytski, V.V. Buinitskaya, A.I. Mikhnevich*

The study shows close relationship between osmotic resistance, deformability, echinocytosis and severity of critical conditions. We have detected paradoxical increase of osmotic resistance in intensive care units patients and

correlation between osmotic resistance of red blood cells and life expectancy of critically ill patients. The data may be used by ICU staff for evaluating severity and predicting an outcome of critical condition.

#### **Литература**

1. Влияние повышенной  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой калиевой проницаемости на деформируемость эритроцитов / О.А. Трубачева [и др.] // Вестн. Томск. гос. пед. ун-та. — 2011. — № 5. — С. 69–71.
2. Володченко, А.И. Механизм влияния адреналина на скорость агглютинации эритроцитов человека / А.И. Володченко, В.И. Циркин, А.А. Костяев // Ярослав. пед. вестн. — 2012. — № 2. — С. 80–84.
3. Крысова, А.В. Роль альфа- и бета-адренорецепторов в реализации способности адреналина изменять осмотическую резистентность эритроцитов небеременных женщин / А.В. Крысова, А.А. Куншин, В.И. Циркин // Вятск. мед. вестн. — 2011. — № 3–4. — С. 8–13.
4. Стрюк, Р.И. Адренореактивность и сердечно-сосудистая система / Р.И. Стрюк, И.Г. Длусская. — М.: Медицина, 2003. — 160 с.
5. Chabanel, A. Increased resistance to membrane deformation of shape-transformed human red blood cells / A. Chabanel, W. Reinhart, S. Chien // Blood. — 1987. — № 3. — P. 39–43.