

ХАРАКТЕРИСТИКА ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ

Муравлёва Л.Е.¹, Молотов-Лучанский В.Б.¹, Бакирова Р.Е.¹, Ключев Д.А.¹,
Муравлёв В.К.²

¹Карагандинский государственный медицинский университет, Караганда, Казахстан (100008, г. Караганда, ул. Гоголя, 40), e-mail: lem2403@mail.ru

²Карагандинский государственный технический университет, Караганда, Казахстан (100027, г. Караганда, Бульвар Мира, 56), e-mail: muravlev@inbox.ru

Анализируются результаты исследования эритроцитов крови больных хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ). Одно направление исследований связано с изучением окислительного стресса. Показано изменение активности ферментов антиоксидантной защиты, содержания разных форм гемоглобина, включая метгемоглобин, продуктов перекисного окисления липидов в эритроцитах больных ХОБЛ. Другое направление связано с изучением физико-химических показателей эритроцитов. Обсуждаются данные об изменении формы эритроцитов, их электрофоретической подвижности при ХОБЛ. В то же время имеются определенные различия по направленности изменения ряда биохимических показателей в эритроцитах. Вероятно, это связано с тем, что при выполнении исследований или при интерпретации результатов не учитывались клинические формы ХОБЛ, стадии и степень тяжести. Дальнейшее изучение метаболизма и физико-химических свойств эритроцитов является перспективным для понимания механизмов прогрессирования ХОБЛ.

Ключевые слова: эритроциты, хроническая обструктивная болезнь легких, метаболизм, физико-химические свойства.

CHARACTERISTICS OF ERYTHROCYTES AT CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Muravlyova L.E.¹, Molotov-Luchanckiy V.B.¹, Bakirova R.E.¹, Klyuyev D.A.¹,
Muravlyov V.K.²

¹Karaganda state medical university, Karaganda, Kazakhstan (100008, g. Karaganda-city, Gogol street, 40), e-mail: lem2403@mail.ru

² Karaganda state technical university, Karaganda, Kazakhstan (100027, g. Karaganda-city, Gogol street, 40) (100027, g. Karaganda, Boulevard Mira, 56), e-mail: muravlev@inbox.ru

The results of the red blood cells studies in patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are analyzed. One direction of research is related to the study of oxidative stress. The alteration in the activity of antioxidant enzymes, the levels of different forms of hemoglobin, including methemoglobin, products of lipid peroxidation are observed in erythrocytes of COPD patients. Another area concerns the study of physical and chemical parameters of red blood cells. The data about the change in the shape of erythrocytes, their electrophoretic mobility at COPD are discussed. At the same time there are certain differences in the direction of changes of biochemical parameters in erythrocytes of COPD patients. This is probably due to the fact that when doing research or the interpretation of the results clinical forms of COPD, the stage and severity were not taken in account. Further study of the metabolism and the physic – chemical properties of red blood cells will be perspective for understanding the mechanisms of COPD progression.

Keywords: erythrocytes, chronic obstructive pulmonary disease, metabolism, physical and chemical properties.

В физиологических условиях эритроцит человека является эластичным двояковогнутым диском. Высокое и стабилизированное отношение площади поверхности к объему позволяет красным клеткам менять форму, проходя по узким капиллярам в процессе выполнения газотранспортной функции.

В последнее время благодаря интенсивному развитию протеомики описано много новых белков в эритроцитах, изучаются их белок-белковые взаимодействия и функции [1]. Это дает возможность установить новые аспекты в регуляции процессов метаболизма красных клеток.

Получены данные, демонстрирующие взаимозависимость между доменами белка 3 полосы, конформацией гемоглобина и метаболическими путями утилизации глюкозы в эритроцитах (гликолиз, пентозофосфатный путь). В условиях высокой оксигенации связывание гликолитических ферментов с белком 3 полосы ингибирует гликолиз при усилении пентозофосфатного пути. В условиях низкой оксигенации взаимодействие дезоксигемоглобина с белком 3 полосы приводит к усилению гликолиза и снижению пентозофосфатного пути [13; 14].

Высказано предположение о существовании систем транспорта электронов в мембранах эритроцитов; перенос восстановительных эквивалентов в обе стороны через мембрану эритроцитов дает возможность регулировать баланс окислительно-восстановительных реакций внутри красных клеток и в окружающей среде [20].

Метаболизм и физико-химические свойства эритроцитов исследуют при различных патологических состояниях и болезнях, в частности, при гипоксии.

Развитие гипоксии оказывает выраженное влияние на метаболический статус эритроцитов. Прежде всего, это проявляется развитием окислительного стресса, активацией гликолиза и накоплением 2,3-дифосфоглицерата. В условиях гипоксии происходит высвобождение железа из внутриклеточных белковых комплексов, что рассматривается как один из факторов активации окислительного стресса. Предположено, что в условиях гипоксии меняется фосфорилирование тирозиновых остатков белков эритроцитов, что оказывает влияние на внутриклеточную сигнализацию, метаболизм, а также на мембранный транспорт, объем клеток и их форму [18].

В условиях гипоксии окислительный стресс в эритроцитах существенно влияет на активность глицероальдегид-3-фосфатдегидрогеназы и активность белка 3 полосы [16].

Высказано предположение, что повышение дезоксигемоглобина может ограничивать устойчивость эритроцитов к окислительному стрессу. Эритроциты человека способны регулировать образование супероксиданионов в зависимости от напряжения кислорода и конформации гемоглобина. Конформация гемоглобина определяет переключение основных путей метаболизма глюкозы в эритроцитах, что вносит вклад в устойчивость эритроцитов к окислительному стрессу. Также высказано мнение, что конформация гемоглобина контролирует метаболизм не только глюкозы, но и тиолов в эритроцитах. В условиях гипоксии эритроциты демонстрировали снижение восстановительного потенциала системы глутатиона [19].

Другим приоритетным направлением медико-биологических исследований является изучение метаболизма и физико-химических свойств красных клеток при заболеваниях, сопровождающихся развитием гипоксии. Одним из таких заболеваний является хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ).

В эритроцитах крови больных ХОБЛ зафиксировано существенное снижение активности глутатионпероксидазы при незначительном уменьшении активности супероксиддисмутазы и каталазы [24]. В цельной крови больных ХОБЛ обнаружено снижение уровня восстановленного глутатиона [25]. В то же время другие авторы указывали на снижение активности всех ключевых ферментов антиоксидантной защиты в эритроцитах крови больных ХОБЛ [21].

Подробное исследование состояния параметров окислительного стресса проведено в работах Мишиной Н.А. Она включила в обследование 3 группы больных со среднетяжелым течением ХОБЛ с нормоцитозом, с выраженным эритроцитозом и пациентов тяжелой стадии ХОБЛ без эритроцитоза. Установлены разнонаправленные изменения изучаемых показателей в эритроцитах крови больных ХОБЛ. Так, у больных со среднетяжелым течением ХОБЛ наблюдалось увеличение активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, метгемоглобинредуктазы, уровня восстановленного глутатиона. В то же время у больных тяжелой стадии ХОБЛ в эритроцитах наблюдалось снижение активности ферментов АОЗ, метгемоглобинредуктазы, уровня восстановленного глутатиона, при увеличении концентрации метгемоглобина и мембраносвязанного гемоглобина. Кроме того, в эритроцитах крови больных тяжелой стадии ХОБЛ снижался уровень витамина Е при увеличении содержания малонового диальдегида. Эти изменения развивались при нарастающем лактоацидозе. В эритроцитах больных с тяжелым течением ХОБЛ нарастала кластеризация белков при снижении концентрации SH-групп. У больных этой же группы снижался потенциал электродиффузионного пробоя эритроцитов, уменьшался индекс фильтруемости, но возрастала способность к агрегации. По мнению автора, окислительный стресс вызывает зависимое от тяжести ХОБЛ нарушение реологических свойств эритроцитов и формирование перекисно-модифицированной мембраны эритроцитов, что приводит к снижению активности мембраносвязанных ферментов и нарушению барьерной функции мембраны [3, 4, 5, 6, 10].

Изменение активности ферментов обмена глутатиона было зафиксировано и в исследовании V.R. Biljak et al. [17], которые показали, что в эритроцитах крови больных ХОБЛ средней и тяжелой степени активность глутатионредуктазы возрастала, а активность глутатионпероксидазы, наоборот, снижалась. В то же время не обнаружено различий направленности и степени изменения активности этих ферментов у больных в зависимости от степени тяжести ХОБЛ [17].

Обнаружено увеличение активности глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы при снижении активности ферментов обмена глутатиона и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в эритроцитах крови больных ХОБЛ как средней, так и тяжелой степени. По мнению авторов, это свидетельствует о сохранении целостности эритроцитов (без гемолиза), но при этом влияло (ограничивало) на газотранспортные функции красных клеток [30].

Проведено сопоставление между степенью изменения показателей функции внешнего дыхания и окислительного стресса эритроцитов крови больных ХОБЛ. Показано, что снижение антиоксидантного потенциала эритроцитов не коррелировало с показателями функции внешнего дыхания [28].

Исследование белков мембран эритроцитов больных ХОБЛ показало снижение белка Chogein (VPS13A), что связывают с нарушением деформабильности эритроцитов. Также обнаружено снижение экспрессии метгемоглобинредуктазы, что повышает риск развития метгемоглобинемии у больных ХОБЛ [23].

Показано, что в эритроцитах крови больных ХОБЛ наряду с увеличением показателей окислительного стресса изменена активность 3-фосфотирозинфосфатазы и анионного обменника ФУ-1, что, по мнению авторов исследования, может влиять на ионный гомеостаз красных клеток [26].

В мембранах эритроцитов больных ХОБЛ зафиксирован рост карбониловых производных белков и изменение состава полиненасыщенных жирных кислот: снижение содержания арахидоновой кислоты при увеличении пальмитиновой кислоты. В то же время имеются данные об увеличении содержания арахидоновой кислоты при снижении уровня эйкозапентаеновой кислоты в мембранах эритроцитов больных ХОБЛ. На основании этих результатов авторами высказано предположение о нарушении соотношения про- и анти-воспалительных эйкозаноидов [22, 15].

Окислительный стресс в эритроцитах приводит к снижению их транспортной функции, способности гемоглобина связывать кислород вследствие образования метгемоглобина. Окислительное повреждение может затрагивать и мембранные белки, в том числе участвующие в транспорте ионов и в поддержании целостности мембраны [29].

Другим направлением является изучение физико-химических свойств эритроцитов крови больных ХОБЛ.

Корнаухова И.Ю. проведено детальное исследование красной крови у больных ХОБЛ. Ограничением данного исследования явился пол больных, так как обследование проводилось только у мужчин. Было установлено, что у подавляющего числа обследованных больных с ХОБЛ параметры гематокрита, гемоглобина, количества эритроцитов в периферической крови, объем эритроцитов и содержание гемоглобина в эритроците находились в пределах нормы. В то же время у 60 % больных ХОБЛ выявлялся метгемоглобин, у 80 % – сульфгемоглобин, увеличилось содержание гликозилированного гемоглобина и у 77 % обследуемых – фетального гемоглобина.

Большой интерес представляют результаты по изменению среднего объема эритроцитов: при утяжелении ХОБЛ средний объем эритроцитов составляет не более 81 фемтолитров. По мнению автора, снижение среднего объема эритроцитов является прогностическим критерием

утяжеления ХОБЛ [2].

Е.В. Приваловой и соавт выявлена тенденция к снижению средней концентрации гемоглобина в эритроците у больных ХОБЛ [7,8].

Зафиксировано изменение формы эритроцитов крови больных ХОБЛ: снижение нормальных дискоцитов при увеличении эхиноцитов, сфероцитов, овалоцитов, а также появление каплевидных, мишеневидных и других дегенеративных форм [9, 11].

О снижении показателей электрофоретической подвижности эритроцитов крови больных ХОБЛ указано в работе Цыбжитовой Э.Б. и соавт. [12].

По мнению Santini M.T. et al. изменение формы эритроцитов и реологических свойств крови играет ключевую роль в течение ХОБЛ [27].

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 состояния эритроцитов у больных ХОБЛ различной степени тяжести как одно из перспективных направлений исследования.

Как следует из представленных данных, проводится достаточно большой объем исследований метаболического статуса и физико-химических свойств эритроцитов крови больных ХОБЛ. В то же время имеются определенные различия по направленности изменения ряда показателей. По всей вероятности, это связано с тем, что при выполнении исследований или при интерпретации результатов не учитывались клинические формы ХОБЛ, стадии и степень тяжести.

Это требует проведения дальнейших исследований физико-химических свойств и метаболического статуса эритроцитов для корректной оценки роли красных клеток в механизмах развития и прогрессирования ХОБЛ.

Список литературы

1. Белки эритроцитов. Миниобзор. / Л.Е. Муравлёва, В.Б. Молотов-Лучанский, Д.А. Клюев и соавт. // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 4. – С. 28-31.
2. Корноухова И.В. Клинико-диагностическое значение исследований эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов у мужчин, больных хронической обструктивной болезнью легких: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – Астрахань, 2003. – 23 с.
3. Мишина Н.А. Патогенетическая связь между тяжестью течения ХОБЛ, индексом курильщика и системными изменениями показателей красной крови // Аспирантские чтения-2009: тр. региональной конф. Молодые учёные – медицине. – Самара, 2009. – С. 132-135.

4. Мишина Н.А. Особенности формирования окислительного стресса в эритроцитах крови у больных хронической обструктивной болезнью лёгких // Аспирантский вестник Поволжья. – 2009. – № 7–8. – С. 42-47.
5. Мишина Н.А. Структурно-функциональное состояние мембран эритроцитов крови у больных ХОБЛ с выраженным эритроцитозом // Аспирантский вестник Поволжья. – 2010. – № 7–8. – С. 64-69.
6. Мишина, Н.А. Оксидантно-антиоксидантный статус эритроцитов при хронической обструктивной болезни лёгких / Н.А. Мишина, И.Л. Давыдкин, В.И. Купаев // Вестник Российского университета дружбы народов. – 2010. – № 4. – С. 354-357.
7. Привалова, Е.В. Морфологические характеристики эритроцитов у курильщиков с хронической обструктивной болезнью легких / Е.В. Привалова, Т.В. Вавилова, Н.А. Кузубова // Пульмонология. – 2008. – № 6. – С. 48-52.
8. Привалова, Е.В. Лабораторная оценка циркулирующего пула эритроцитов у больных хронической обструктивной болезнью легких и курильщиков / Е.В. Привалова, Т.В. Вавилова, Н.А. Кузубова // Болезни органов дыхания. – 2009. – № 1. – С. 46-53.
9. 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.
10. Структурно-функциональные свойства эритроцитов периферической крови / И.Л. Давыдкин, А.В. Селезнёв, Е.П. Ромашева, Н. А. Мишина // Основы клинической гемостазиологии: монография / И.Л. Давыдкин, В.А. Кондурцев, Т.Ю. Степанова, С.А. Бобылев. – Самара: ООО Офорт, 2009. – С. 77-96.
11. Цыбжитова Э.Б. Морфофункциональная характеристика периферического звена эритроцитов больных хроническими неспецифическими заболеваниями легких в динамике лечения: автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – М., 2010. – 25 с.
12. Цыбжитова, Э.Б. Электрофоретическая подвижность эритроцитов у больных с хроническими заболеваниями легких / Э.Б. Цыбжитова, Т.Г. Сарычева, О.В. Попова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2008. – № 9. – С.74.
13. Varvitenko N.N., Adragna N.C., Weber R.E. Erythrocyte Signal Transduction Pathways, their Oxygenation Dependence and Functional Significance // Cell Physiol. Biochem. 2005. № 15. P. 1–18.
14. Campanella M.E., Chu H., Low P.S. Assembly and regulation of a glycolytic enzyme complex on the human erythrocyte membrane // PNAS. 2005. Vol. 102, № 7. P. 2402–2407.
15. Comparison of changes in erythrocyte and platelet phospholipid and fatty acid composition and protein oxidation in chronic obstructive pulmonary disease and asthma / De Castro

- J., Hernández-Hernández A., Rodríguez M.C. et. al. // Platelets. 2007 (1). P.43-51.
16. Defective adaption of erythrocytes during acute hypoxia injury in an elderly population / D. de Gonzalo-Calvo., K. Neitzert, M. Fernández, I. Vega-Naredo et al. // Gerontol A Biol Sci Med Sci. 2011. 66 (4). P.376-384
17. Glutathione cycle in stable chronic obstructive pulmonary disease // V.R. Biljak, L. Rumora, I. Cepelak et al. // Cell Biochem Funct. 2010. (6). P.448-453.
18. Hypoxia-Induced Post-Translational Changes in Red Blood Cell Protein Map of Newborns /B. Marzocchi, L. Ciccoli, C. Tani et al. // Pediatric Research. 2005. 58. P. 660–665.
19. Hypoxia limits antioxidant capacity in red blood cells by altering glycolytic pathway dominance / S. C. Rogers, A. Said, D. Corcuera et. Al. // The FASEB Journal. 2009. Vol. 23. N. 9. P. 3159-3170.
20. Kennett E.C., Kuchel P.W. Redox reactions and electron transfer across the red cell membrane // IUBMB Life. 2003. 55 (7). P. 375-385.
21. Metabolic disorders in patients with chronic obstructive pulmonary disease / E.P. Kalinina, E.M. Ivanov, V.I. Ian'kova, T.I. Vitkina // Ter. Arkh. 2007. 79 (3). P.15-17.
22. Modification of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases / T.P. Novgorodtseva, Y.K. Denisenko, N.V. Zhukova et al. // Lipids Health Dis. 2013; 12. P.117.
23. Profiling the erythrocyte membrane proteome isolated from patients diagnosed with chronic obstructive pulmonary disease /Alexandre BM, Charro N, Blonder J et al. //J Proteomics. – 2012.- 5; 76 Spec N. – P.259-69.
- 24.Oxidative stress in patients with COPD and pulmonary hypertension /J. P, Petrásová, D. Stancák, B. Dorková, Z. Tkáčová // Wien Klin Wochenschr. 2007; 119 (13-14). P.428-434.
25. Oxidative stress and antioxidant status in chronic obstructive pulmonary disease patients / K. Nagaraj, H. Chandrakanth, A. Pyati, S. Murthy // IJPBS. 2011. Vol. 1. Issue 4. P. 447-456.
26. RBC membrane damage and decreased band 3 phospho-tyrosine phosphatase activity are markers of COPD progression / Y.D. Torres-Ramos, A.M. Guzman-Grenfell, A. Montoya-Estrada et al. // Front Biosci. 2010. 2. P.1385-93.
27. Structural Alterations in Erythrocytes from Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease / M.T. Santini, E. Straface, A. Cipri, M. et. al. // Haemostasis.-1997.27. P.201-210
28. The levels of oxidant and antioxidant in patients with COPD / E. Altuntaş, Turgut, N. Ilhan et. Al. // Tuberk Toraks. 2003. 51(4). P. 373-379.
- 29.Torres-Ramos Y.D., Montoya-Estrada A., Hicks G.J.J. Erythrocyte dysfunction in tissue hypoxia in patients with COPD and its relationship with oxidative stress //Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Mex. 2009.22 (4). P. 356-365.
30. Urban PM2.5 activates GAPDH and induces RBC damage in COPD patients /A.

Montoya-Estrada, Y.D. Torres-Ramos, A. Flores-Pliego et al. // Front Biosci (Schol Ed). 2013. 5. P.638-649.

Рецензенты:

Койчубеков Б.К., д.б.н., профессор, зав. кафедрой медицинской биофизики и информатики Карагандинского государственного медицинского университета, г. Караганда;

Алиханова К.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей и врачебной практики факультета непрерывного профессионального развития Карагандинского государственного медицинского университета, г. Караганда.