цировать варианты недостаточности кровообращения: без признаков ее (H_0) и начальную степень (H_1).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Галицкий Э. А., Переверзева Н. А., Апок Е. К. и др.* Автоматизация расчета Скетчардовского анализа.— М., 1985.— Деп. в ВИНИТИ 9.10.85, № 7137-13.
2. *Галицкий Э. А., Переверзева Н. А., Апок Е. К. и др.* Диагностика недостаточности кровообращения по стероидному спектру крови и показателям гемодинамики на ЭВМ.— М., 1986.— Деп. в ВИНИТИ, № 10403-85.
3. *Герасимова Е. Н., Чазова Л. В.* // Вопр. мед. химии.— 1973.— Т. 19, № 1.— С. 61—65.
4. *Голиков А. П., Бобков А. И.* // Кардиология.— 1973.— Т. 8, № 5.— С. 15—20.
5. *Горизонтов П. Д.* // Патологич. физиология и экспериментальная терапия.— 1965.— № 9.— С. 3—8.
6. *Истомова Т. С.* // Сердце и эндокринная система.— Л., 1969.
7. *Корочкин И. М., Матвеенцева И. В., Королева С. А.* // Кардиология.— 1971.— Т. 11, № 12.— С. 64—69.
8. *Надольник Л. И., Галицкий Э. А., Белуга В. Б. и др.* // Кардиология.— 1988.— Т. 28, № 3.— С. 61—63.
9. *Павлихина Л. В., Усватова И. Я., Бунатян А. Ф.* Методы исследования некоторых систем гуморальной регуляции.— М., 1970.— С. 50—59.
10. *Пушкарь Ю. Т., Большакова В. М., Елизарова А. Ф.* // Кардиология.— 1977.— Т. 17, № 7.— С. 85—90.
11. *Степура О. Б.* Особенности глюкокортикоидной функции надпочечников при терминальных осложнениях острого инфаркта миокарда: Автореф. дис. ...канд. мед. наук.— М., 1980.
12. *Чард Т.* Радиоиммунологические методы.— М., 1981.— С. 28.
13. *Baxter J. D., Tomkins G. M.* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.— 1971.— Vol. 68.— P. 932.
14. *Kubicek W., Patterson R., Lillehei I. et al.* // J. Am. Assoc. for Advancement of med. Instrumentation.— 1970.— N 4.— P. 79—84.
15. *Lowry D. H., Rossonbrough N. J., Randall R. J.* // J. Biol. Chem.— 1951.— Vol. 193.— P. 265.
16. *Schatchard G.* // Ann. N. Y. Acad. Sci.— 1949.— Vol. 51.— P. 660—672.
17. *Sylye H.* The physiclogy and pathology of exposure to stress.— Montreal, 1950.— P. 403—415.

Поступила 04.10.88.

EARLY DIAGNOSIS OF CIRCULATION FAILURE ACCORDING TO GLUCOCORTICOID SPECTRUM OF BLOOD

V. V. Vinogradov, E. A. Galitsky, L. I. Nadolnik, V. B. Beluga, V. P. Vodoevich, I. I. Ilyina, V. I. Zaitsev

Data of the cardiohemodynamics functional status according to an isotopic circulography and a rheography have been compared with results of the study of a glucocorticoid spectrum of blood in hypertensive and ischemic patients during the veloergometric test at a threshold capacity. Two types of alterations in the glucocorticoid spectrum of blood have been detected in patients without manifestations of the circulation defeciency and in patients with the initial stage of the mentioned deficiency. The discussed biochemical tests can be applied for the diagnosis of the circulatory insufficiency together with the common methods.

УДК 612.117:612.411

М. В. БОРИСЮК, В. В. ЗИНЧУК

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ДЕФОРМИРУЕМОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ

Кафедра биологической и медицинской физики (заведующий — профессор М. В. Борисюк), кафедра нормальной физиологии (заведующий — профессор И. К. Жмакин) Гродненского медицинского института

Реферат. Обсуждается физиологическое значение деформируемости эритроцитов в норме и патологии. Проводится анализ причин ухудшения деформируемости эритроцитов и подчеркивается необходимость ее определения в динамике для контроля за эффективностью лечения ряда заболеваний. Дается краткая характеристика методов изучения деформируемости эритроцитов. Рекомендуется использовать фильтрационный метод, который достаточно прост и информативен.

Библиогр.: 25 назв.

Ключевые слова: микроциркуляция, эритроциты, деформируемость, оценка.

Долгое время при изучении кровообращения основное внимание уделялось анализу изменений функций сердца и сосудов, а оценке реологических свойств движущейся по сосудистому руслу крови, выявлению их роли в транспорте газов придавали второстепенное значение. В настоящее время положение несколько изменилось и изучению этих свойств крови придается большее внимание. Одним из основных показателей гемореологии является деформируемость эритроцитов, которая характеризует способность этих клеток изменять свою форму под действием внешних сил. Нормальные эритроциты могут изменять свои размеры более чем в 2 раза в сравнении с исходными параметрами [18]. Способностью к деформации обладают только безъядерные эритроциты человека и млекопитающих, которые являются уникальными и сверхспециализированными клетками крови, идеально приспособленными для максимального связывания кислорода и поступления его из капилляров в ткани [21]. Особенно велика роль деформируемости при прохождении эритроцитов по микроциркуляторному руслу, на отдельных участках которого диаметр кровеносных сосудов меньше размеров самого эритроцита. Роль деформируемости в оксигенации тканей хорошо иллюстрируется расчетами Шмид-Шонбейн Г. [10]. У млекопитающих участок тканей размерами 100×100×1000 *мкм* имеет 16 капилляров диаметром 3,75 *мкм*. У немлекопитающих, эритроциты которых не деформируются, в таком же объеме тканей содержится один капилляр диаметром 15 *мкм*. За счет этих особенностей капилляризации тканей у млекопитающих площадь активной диффузии увеличивается в 4 раза, а максимальная длина диффузии снижается также в 4 раза, что в итоге в соответствии с законом Фика способствует увеличению диффузного потока кислорода в ткани в 16 раз, в сравнении с таким же объемом ткани у немлекопитающих. Деформация эритроцитов при прохождении через капилляры также ведет к усилению внутриклеточной конвекции кислорода, деокси- и оксигемоглобинов, что тоже благоприятствует внутриэритроцитарной диффузии кислорода [21]. При ухудшении деформируемости наблюдалось снижение напряжения кислорода в тканях [9]. Нормальная деформация является важным фактором в поддержании необходимой перфузии для микроциркуляции, особенно при низких градиентах артериального давления, а понижение этого свойства эритроцитов ведет к значительно более выраженным расстройствам кровотока, нежели изменению гематокрита.

Способность эритроцитов к деформации оказывает существенное влияние на проявление феномена Фареуса — Линдквиста и на вязкость цельной крови. При ее инкубации в 2%-ном растворе глютарового альдегида вязкость увеличивается на 20 % при высоких скоростях сдвига, и кровь утрачивает свой аномальный неньютоновский характер поведения [6]. В опытах на собаках, перфузированных в одном случае раствором гемоглобина, а в другом — кровью, было показано, что давление, необходимое для поддержания кровотока при перфузии кровью, составляет 73 % от давления, необходимого для перфузии раствором гемоглобина со сравнимыми кислородтранспортными способностями [22].

Деформация эритроцитов является лимитирующим фактором продолжительности жизни эритроцитов [18]. Нормальные, эластичные эритроциты способны легче проходить через капилляры меньшего диаметра и малейшие отверстия в венозных синусах селезенки. Старые, плохо деформируемые эритроциты задерживаются в этих капиллярах и подвергаются деструкции и лизису. Именно нарушение деформабельных свойств эритроцитов, их повышенное разрушение в селезенке лежит в основе патогенеза большинства гемолитических анемий.

Способность эритроцитов к деформации определяется внутренней вязкостью, эластичными свойствами мембраны и отношением объема клетки к ее площади. Цитоплазматическая вязкость существенно зависит от концентрации гемоглобина. В физиологических концентрациях это влияние невелико, однако начиная с 370 *г/л* и более внутренняя вязкость экспоненциально возрастает и при концентрациях 400, 450, 500 *г/л* составляет 45, 170 и 650 *сП* соответственно [18]. Понижение деформируемости эритроцитов новорожденных в сравнении с эритроцитами взрослых, возможно, связано с более высоким содержанием в них гемоглобина [24]. Внутриэритроцитарная вязкость зависит от вида гемоглобина, классическим примером чего является HB-s при серповидно-клеточной анемии. Для восстановленной формы этого гемоглобина характерно снижение растворимости в десятки раз, что ведет к образованию геля, имеющего более высокую вязкость. За счет значительного увеличения внутриэритроцитарной вязкости существенно ухудшаются деформабельные свойства эритроцитов. Аналогичное снижение деформируемости наблюдается и при других гемоглобинопатиях, в частности при носительстве аномальных нестабильных гемоглобинов [18].

Эластичные и вязкостные свойства мембраны эритроцитов определяются состоянием и взаимодействием спектрин-спектриновых, спектрин-актин Б 4.1. комплексов и интегральных белков. Поддержание нормальной структуры мембраны скелета эритроцита возможно при оптимальном содержании АТФ, ионов Ca^+, Mg^{2+}, 2, 3-дифосфоглицерата [3]. При снижении концентрации АТФ в эритроцитах происходит ухудшение их деформируемости [16].

Эритроцит измененной формы характеризуется повышенной резистентностью к деформации. Появление шипов на мембране эритроцита, трансформация в зазубренный сфероид-эхиноцит, наличие в крови телец Гейнца понижает способность эритроцита к деформации [16].

На способность эритроцита к деформации определенное влияние оказывают физико-химические факторы (pH, осмолярность, газовый состав, температура). Деформация эритроцитов оптимальна при pH=7,4 [13]. В случае отклонения pH в сторону ацидоза или алкалоза происходит ее уменьшение [19], что является следствием изменения структуры мембран эритроцита и, в частности, нарушения взаимодействия белков, локализованных на цитоплазматической мембране. При прохождении через поры в гипо- и гиперосмолярных условиях увеличивается время фильтрации [18]. Деформируемость не зависит от содержания кислорода и несколько ниже при возрастании напряжения углекислого газа [13]. Температура оказывает двоякое влияние на деформацию эритроцитов. С одной стороны, при увеличении температуры окружающей среды, в которой выполняется измерение, деформация увеличивается [13], с другой — длительное воздействие повышенной температуры (10 минут и более при t=48 °C) снижает деформацию [14], что связано с уменьшением уровня АТФ и дефосфорилированием спектрина [11].

Деформируемость эритроцитов претерпевает значительные изменения с возрастом. Старые эритроциты в сравнении с молодыми обладают пониженной деформацией [8], что, по-видимому, связано с ухудшением эластичности мембраны и повышением внутренней вязкости за счет увеличения внутриклеточного содержания гемоглобина и снижения концентрации АТФ. Показано [25], что средняя внутриклеточная концентрация гемоглобина 317 *г/л* имеет место в молодых эритроцитах и 375 *г/л* — в старых. Это эквивалентно величинам внутренней вязкости 9 *сП* и 54 *сП* соответственно.

Известно большое количество химических агентов, снижающих деформацию. Наиболее часто с этой целью используется глютаровый альдегид, ацетилфенилгидразин, лизолецитин [6]. Аналогичный эффект наблюдался при действии на эритроциты жирными кислотами, желчью или ядом гремучей змеи, а также при инкубации их в среде с избыточным содержанием свободных радикалов кислорода.

РЕПОЗИТОРИЙ ГрГМУ

Таким образом, деформация эритроцитов определяется различными внешними и внутренними факторами, а также состоянием метаболизма, которые реализуют свое влияние через детерминанты деформации: внутреннюю вязкость, эластичность мембраны и «клеточную геометрию». Деформацию следует рассматривать как интегративный показатель функционального состояния эритроцитов. Она претерпевает значительные изменения не только при наследственных и приобретенных заболеваниях крови, но и при различных заболеваниях организма, не связанных непосредственно с поражением эритроцитов.

Снижение деформируемости эритроцитов наблюдается при заболеваниях сердечно-сосудистой системы. Ухудшение фильтруемости эритроцитов при ишемической болезни сердца зависит от формы и степени тяжести заболевания [9], что обусловлено, очевидно, увеличением содержания холестерина в клетках. Изменения объема клетки и концентрации гемоглобина при этом не происходит [9]. Снижение деформируемости наблюдается в острой фазе инфаркта миокарда и повышается в восстановительном периоде.

Ухудшение фильтруемости имеет место при различных нарушениях мозгового кровообращения [5]. Нарушение способности эритроцитов к изменению своей формы, несомненно, ухудшает трофику питаемых тканей, а также увеличивает работу сердца, затрачиваемую на продвижение крови по сосудистому руслу, что играет определенную роль в патогенезе этих нозологических форм. Имеются данные о нарушении деформируемости при заболеваниях почек, тиреотоксикозе, сахарном диабете и офтальмологической патологии.

При исследовании лиц женского пола необходимо учитывать фазу менструального цикла. В прогестероновой фазе фильтруемость эритроцитов снижена в сравнении с эстрогеновой [17]. При хранении крови деформируемость эритроцитов также снижается. Наиболее выраженные изменения происходят в первые семь дней и менее значительные в последующие 14 дней [1, 7], что связано как со структурными изменениями мембраны, так и со способом консервации. Изменение способности эритроцитов к деформации в определенной степени отражает тяжесть состояния больного, резкое ухудшение деформируемости является неблагоприятным прогностическим признаком [2].

Проблема фармакологической коррекции деформируемости эритроцитов весьма актуальна в клинической медицине. Имеются данные о благоприятном влиянии на деформацию эритроцитов пентоксифиллина, хлорпромазина и этанола, бенциклана, буфломедила, лидокаина, трентала [10, 23] и некоторых плазмозаменителей, в частности реополиглюкина, желатинола, лактосоля [4]. Повышение деформируемости также наблюдается в опытах in vitro при инкубации эритроцитов в присутствии глюкозы, аденазина и аденина в 0,6%-ном изотоническом растворе проканна. Однако эта проблема еще далека от своего решения [4, 10].

Анализ приведенных данных свидетельствует о том, что деформируемость эритроцитов является информативным клинико-физиологическим показателем, который определяет движение крови по сосудам при различных видах патологии, особенно на уровне микроциркуляции. Ее изменение коррелирует со степенью тяжести состояния.

В настоящее время существует большое число разнообразных методов изучения деформации эритроцитов, среди которых наибольшее распространение получили три: микропипеточные, эктацитометрические и фильтрационные.

Наиболее объективным и теоретически разработанным является микропипеточный метод [18]. Суть его заключается в аспирации эритроцитов в микропипетку малого диаметра (3—4 *мк* и около 1 *мк*). Деформацию оценивают по величине отрицательного давления и размерам всосавшейся части клетки. Это идеальный метод для изучения влияния структурных изменений мембраны на деформацию эритроцитов. Однако техническая реализация данного способа весьма сложна и, главное, с его помощью можно оценить деформацию только лишь одного или нескольких эритроцитов, что ограничивает его широкое применение в практике [7].

Эктацитометрический метод [8] основывается на образовании после прохождения луча гелий-неонового лазера через суспензии эритроцитов специфической дифракционной картины — «паттерна», форма которого определяется деформабельными свойствами эритроцитов. Нормальные эритроциты под действием сдвиговых напряжений малых величин имеют «паттерн» в форме концентрических окружностей, который превращается в эллипсоид при действии на эритроциты значительных напряжений сдвигов. Способность эритроцитов к деформации оценивается по изменению соотношения вертикальной и горизонтальной осей «паттерна» [6]. Для жестких эритроцитов данное соотношение меняется незначительно. Необходимые значения напряжения сдвига, как правило, задаются с помощью ротационного вискозиметра, внутренний и внешний цилиндры которого сделаны из прозрачного для лазера материала. Эктацитометрия в большей степени чувствительна к нарушениям деформации эритроцитов, обусловленным повышением внутриэритроцитарной вязкости. Данный метод требует сравнительно небольших объемов крови, но его использование возможно в технически хорошо оснащенных лабораториях.

В основе фильтрационных методов лежит изучение прохождения эритроцитов через поры фильтра. В 1967 году предложено изучать фильтруемость эритроцитов на бумажных и на поликарбонатных фильтрах. Движение эритроцитов через поры фильтра описывается уравнением Ньютона $\tau = \eta \times \gamma$, где τ — напряжение сдвига, η — вязкость, γ — скорость сдвига. Напряжение сдвига рассчитывается по формуле $\tau = (P \cdot R) : (2 \cdot L)$, где P — давление, прикладываемое или развивающееся при прохождении эритроцитов через поры, R — радиус пор, L — их длина. Скорость сдвига определяется по формуле $\gamma = (4 \cdot v) : R$, где v — скорость движения эритроцитов [6]. Для этих целей используются фильтры с диаметром пор несколько *мк* (3—6 и 20—40). Последние получили менее широкое распространение, так как их применение требует использования эритроцитарных суспензий с большим гематокритным числом (60—90 %) [6], что соответственно требует больших объемов крови для исследования.

Фильтрационный метод отражает влияние всех компонентов, определяющих деформацию эритроцитов, хотя и более чувствителен к изменению отношения объема эритроцита к его площади [18]. Измерение фильтруемости эритроцитов через поры 2, 6 *мк* более чувствительно к нарушению «клеточной геометрии», а через поры 6, 9 *мк* — к повышению внутриклеточной вязкости [20].

Для проведения исследования необходимо отделить эритроциты от остальных форменных элементов крови, среди которых особенно лейкоциты влияют на измерение деформации. Последнее в десятки раз хуже в буферном растворе.

Определение деформации эритроцитов выполняется различными способами: при постоянной скорости фильтрации мерой деформации является величина возникающего давления [15, 20]; при постоянной величине давления фильтрации деформация оценивается по отношению к эритроцитам, прошедшим через фильтр, к их исходному числу [9], либо по времени прохождения определенного объема суспензии эритроцитов через поры фильтра [6, 7, 14]. Подавляющее количество методов, описанных в литературе, основано на последнем принципе. Его недостатком является необходимость использования больших объемов крови, трудность точного определения времени фильтрации, особенно при использовании эритроцитарных суспензий с низким гематокритом, когда время фильтрации составляет всего несколько секунд [7].

На наш взгляд, методы, основанные на регистрации давления при постоянной скорости фильтрации, являются более предпочтительными, так как их применение позволяет использовать суспензии эритроцитов с малой величиной гематокрита, что существенно уменьшает объем крови, необходимый для исследования, снижает вероятность загрязнения суспензии лейкоцитами и закупорку пор фильтра. При этом уменьшается время определения этого показателя, что в целом повышает и точность измерения.

Сравнение описанных выше методов и анализ литературных данных показывают, что каждый метод достаточно объективно отражает влияние хотя бы одной из детерминант деформации: микропипеточный метод в большей степени чувствителен к нарушению свойств мембраны, эктацитометрический — к увеличению внутриэритроцитарной вязкости, фильтрационный — к изменению отношения площади клетки к ее объему. Для комплексной оценки деформации эритроцитов рекомендуется использовать несколько методов [12]. В клинической практике для определения выраженных изменений деформации может быть использован любой из указанных способов, хотя предпочтительно применять фильтрационный, так как при его выполнении создается модель, весьма близкая к естественным условиям микроциркуляции [15]. Благодаря сравнительной простоте, общедоступности и относительной быстроте измерения, данный метод значительно чаще применяется в клинических лабораториях [5].

Таким образом, традиционный подход в клинической практике к анализу нарушений кислородного режима организма только на основании параметров гемодинамики без учета свойств эритроцитов и крови в целом является недостаточным.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Буглов Е. Д., Слабожанина Е. И., Костин Г. Н. и др.* // Гематол. и трансфузиол.— 1988.— № 6.— С. 18—21.
2. *Гологорский В. А., Петухов Е. Б., Александрова Н. П., Березов В. П.* // Анестезиол. и реаниматол.— 1982.— № 1.— С. 38—41.
3. *Казеннов А. М., Маслова М. Н.* // Физиол. журн. СССР.— 1987.— Т. 73, № 12.— С. 1587—1598.
4. *Карабанов Г. Н., Инченко К. С.* // Вестн. хир.— 1986.— № 12.— С. 99—104.
5. *Лебедев Н. В., Ибрагимов Л. Н.* // Журн. невропатол. и психиатр.— 1987.— Т. 37, № 7.— С. 1007—1012.
6. *Левтов Б. А., Регирер С. А., Шадрина Н. Х.* Реология крови.— М.: Медицина, 1982.
7. *Осадчий П. В., Сигал В. Л.* // Гематол. и трансфузиол.— 1987.— № 3.— С. 31—33.
8. *Плашек Я., Маржик Т.* Использование рассеяния лазерного излучения при измерении деформируемости эритроцитов // Исслед. структуры, физ. свойств и энерг. биол. актив. молекул: Матер. II координац. семин. по интегрир. теме научн. техн. сотрудничества Минвузов СССР и ЧССР.— Вильнюс: Мокслас, 1986.— С. 57—63.
9. *Разумов В. Б., Редчиц Е. Г., Виноградова И. В. и др.* // Кардиология.—1987.— Т. 27, № 3.— С. 55—58.
10. *Шмид — Шонбейн Г.* // Кардиология.— 1982.— Т. 23, № 3.— С. 82—85.
11. *Черницкий А. Я., Слабожанина Е. И., Козлова Н. М.* // Вестн. АН БССР.— Сер. Биол. наук.—1982.— № 1.— С. 39—41.
12. *Bareford D., Stone P. C. W., Caldwell N. M., Meiselman H. J. S.* // Clin. Hemorheol.— 1985.— Vol. 5, N 4.— P. 311—322.
13. *Koutsouris D., Delatour-Hanss E., Hanss N.* // Biorheology.— 1985.— Vol. 22, N 2.— P. 119—132.
14. *Kucera M., Meier W., Lerche D.* // Biomed. biochem. acta.— 1986.— Vol. 45, N 3.— P. 353—358.
15. *Leblond P. F., Coulombe L.* // Lab. and Clin. Med.— 1979.— Vol. 94, N 1.— P. 133—143.
16. Lubin A., Desforges J. F. // Blood.— 1972.— Vol. 39, N 5.— P. 658—665.
17. *Mercke C., Lung B.* // Ann. Intern. Med.— 1976.— Vol. 85, N 3.— P. 322—324.
18. *Mohandas N., Chasis J. A., Shobet S. B.* // Seminars in Hematol.— 1983.— Vol. 20, N 3.— P. 225—242.
19. *Norton J. M., Barker N. D., Rand P. W.* // Proc. Soc. Exp. Biol. Med.— 1981.— Vol. 116, N 3.— P. 449—456.
20. *Reinhart W., Chien S.* // Am. J. Physiol.— 1985.— Vol. 248, N 5.— P. 473—479.
21. *Schmid-Shonbein H.* // Physiol. Sci.— 1982.— Vol. 25.— P. 279—289.
22. *Snyder G. K.* // Respirat. Physiol.— 1973.— Vol. 19, N 3.— P. 271—278.
23. *Stoltz J. F.* // Bull. Acad. es Soc. lörraines sci.— 1979.— Vol. 18, N 2.— P. 24—49.
24. *Tillmann W., Wagner D., Schroter W.* // Blut.— 1977.— Vol. 33, N 4.— P. 281—288.
25. *Williams A. R., Norris D. R.* // Scand J. Haematol.— 1980.— Vol. 24, N 1.— P. 57—62.

Поступила 13.10.88.

METHODS OF INVESTIGATION AND CLINICAL VALUE OF ERYTHROCYTES DEFORMABILITY

M. V. Borisyuk, V. V. Zinchook

A physiologic importance of the erythrocyte deformability is described in norm and pathology. The authors analyse reasons of a deformability impairment and discuss its value in the control on the therapy effectiveness in some diseases. Methods of the study of the erythrocyte deformability are outlined. It is recommended to use a filtration method which is simple and informative.

РЕПОЗИТОРИЙ