

Ю.И. Пивоваров, Т.Е. Курильская, А.С. Сергеева, Л.Б. Корякина

## СФЕРОЦИТАРНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ И ЕЕ СВЯЗЬ С БИОХИМИЧЕСКИМИ, ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКИМИ И РЕОЛОГИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ КРОВИ У БОЛЬНЫХ СТЕНОКАРДИЕЙ НАПРЯЖЕНИЯ И ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН, г. Иркутск

*Целью работы было изучить особенности влияния различных факторов крови на развитие сфероцитоза у больных ИБС и гипертонической болезнью. Обследовано 30 больных ИБС и 24 больных гипертонической болезнью с изучением у них клинического статуса и биохимических параметров крови, показателей гемостаза, анализа клеток крови. Обнаружено, что у больных гипертонической болезнью увеличение пула сфероцитарных клеток было закономерно сопряжено с повышенным образованием оксида азота, в то время как у больных ИБС явление сфероцитоза было обусловлено увеличением концентрации активных форм кислородных метаболитов.*

**Ключевые слова:** эритроциты, сфероцитоз, свойства крови, сердечно-сосудистая патология

## THE SPHERICITY OF ERYTHROCYTES AND ITS COMMUNICATION WITH BIOCHEMICAL, HEMOSTASIS AND RHEOLOGICAL BY PROPERTIES OF BLOOD AT THE PATIENTS WITH CORONARY DISEASE AND ARTERIAL HYPERTENSION

Yu.I. Pivovarov, T.E. Kurilskaya, A.S. Sergeeva, L.B. Koryakina

Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery SB RAMS, Irkutsk

*The aim of the work was to study the peculiarities of the influence of blood factors on the development of spherocytosis in patients with coronary disease and arterial hypertension. The study involved 30 patients with coronary disease and 24 patients arterial hypertension with the study of their clinical status and biochemical parameters of blood, hemostasis, blood cell analysis. It was found that the increase in the pool spherocytic cells in patients with arterial hypertension were associated with increased nitric oxide production, while in patients with coronary disease spherocytosis was due to an increase in the concentration of reactive oxygen metabolites.*

**Key words:** erythrocytes, spherocytosis, property of blood, cardiovascular disease

Нарушения функциональных свойств эритроцитов, в основе которых лежат изменения структурно-метаболического состояния красных клеток крови, являются существенными факторами в формировании гипоксического синдрома, что, несомненно, важно при такой патологии сердечно-сосудистой системы, как ИБС или гипертоническая болезнь [10, 12]. Несостоятельность определенного пула циркулирующих эритроцитов проникать в сосуды микроциркуляторного русла для осуществления эффективного газообмена, несомненно, связана с патологическими изменениями в самой мембране этих клеток [12]. Такие изменения в цитоскелете эритроцитов могут проявляться в различных формах отклонения от нормальных клеток, в том числе и в виде сфероцитоза. В связи с этим важно было установить, при каких условиях отклонения различных показателей крови может развиваться сфероцитоз у больных гипертонической болезнью и ИБС.

**Цель работы:** изучить особенности влияния различного уровня биохимических, гемостазиологических и гемореологических показателей крови на развитие сфероцитоза у больных ИБС и гипертонической болезнью.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие пациенты ИБС со стабильной формой стенокардии напряжения (СН) II–III класса тяжести ( $n = 30$ ) и больные с гипер-

тонической болезнью (ГБ) I–II стадии, 1–2 степени ( $n = 24$ ). Все пациенты были мужского пола, возраст больных СН составил  $52 \pm 0,9$ , больных ГБ –  $41 \pm 3,2$  лет. Диагноз СН подтверждали по классификации Канадской ассоциации кардиологов в сочетании с положительными результатами обследования (пробы с физической нагрузкой, суточного ЭКГ-мониторирования и результатов коронарографии). Диагноз ГБ устанавливался по данным анамнеза и клинико-инструментального обследования. Дифференциальная диагностика для исключения симптоматических АГ проводилась в соответствии с рекомендациями Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК, 2004, 2008). Критериями исключения для обеих категорий больных являлись: наличие у больных ХСН выше III–IV стадии по классификации Нью-Йоркской кардиологической ассоциации (NYHA), острый инфаркт миокарда или нарушение мозгового кровообращения в предшествующие 6 мес., нарушения ритма сердца, обострение интеркуррентных заболеваний. В группу больных СН не включали пациентов с сопутствующей артериальной гипертензией выше I степени. У больных ГБ особое внимание обращали на отсутствие приступов стенокардии напряжения.

Для сравнения выявленных закономерностей в отклонении показателя сферичности эритроцитов (ПСЭ) у больных с нормой все изучаемые параметры определялись у клинически здоровых мужчин-до-

норов ( $n = 12$ ), средний возраст которых составил  $27 \pm 2,5$  лет.

Все пациенты были ознакомлены с целями и протоколами исследования. Письменное согласие не являлось обязательным критерием включения в исследование.

ПСЭ рассчитывали по общепринятой формуле:  $ПСЭ = \text{средний диаметр эритроцита (D)} / \text{толщина эритроцита (T)}$ , где T – найденный объем эритроцитов / площадь его основания ( $\pi \cdot r^2$ ), а D –  $7,3 \mu$ . Объем эритроцитов определялся с помощью гематологического анализатора «SYSMEX 4000» (Япония). ПСЭ в норме составляет 3,4–3,9 усл. ед. При этом показание ниже 3,4 означает тенденцию к сфероцитозу.

В структурных фрагментах мембраны эритроцитов рассчитывали процент мембранно-связанного гемоглобина (МСГ) по убыли гемоглобина в гемолизате до и после центрифугирования на спектрофотометре СФ-46 (Россия) при длине 536 нм. Уровень сорбции низко- и средне-молекулярных пептидов (НСМпт усл. ед.) на мембране клеток красной крови определяли в области длин волн 210–260 нм на спектрофотометре СФ-2000 (Россия) после предварительного осаждения крупномолекулярных белков.

Использование этих двух эритроцитарных показателей было обусловлено известными данными литературы о том, что в условиях свободно-радикального окисления гемоглобин, связываясь с мембранным скелетом, разрушает белковую структуру и способствует окислению фосфолипидов через  $Ca^{2+}$ -зависимую липооксигеназную активность [14]. Поэтому увеличение МСГ может указывать на нарушение целостности мембраны эритроцитов. Кроме того, при патологиях, сопровождающихся усилением процессов свободно-радикального окисления, в результате активации протеолиза, в крови накапливается большое количество продуктов деградации белков низко- и средне-молекулярной природы массой 300–5000 Д [5, 11]. Эти пептиды во многом способны соединяться и блокировать рецепторы клеток, неадекватно воздействуя на их функции, а также образовывать прочные комплексы с альбуминами.

Наряду с этим у всех пациентов и доноров изучали вязкость цельной крови ( $\text{мПа} \times \text{с}^{-1}$ ) в сосудах микроциркуляции различного калибра ( $v_{10}, v_{20}, v_{30}, v_{50}, v_{100}, v_{200} - \mu$ ) на анализаторе АКР-2 (Россия). В плазме крови также измеряли адгезию тромбоцитов (АДГтр), агрегацию тромбоцитов с АДФ (АГРтр с АДФ), спонтанную агрегацию тромбоцитов (СПагртр) на двухканальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов «Биола» (Россия). Активность антитромбина-III, плазминогена и фактора Виллебранда оценивали с помощью автоматического коагулометра ВСТ (Германия, США). Уровень фибриногена устанавливали фотометрическим методом на фотометре V-50 (Германия). Содержание малонового диальдегида в плазме крови (МДАпл) и эритроцитов (МДАэр) определяли по методике Гончаренко М.С. и соавт [1]. Уровень ЛПВП, ЛПНП, ТГ, мочевой кислоты, креатинина, С-реактивного белка (СРБ), сывороточного Fe, Na, Ca, Mg, общего билирубина, мочевины и альбумина, а также активности АЛТ и АСТ определя-

ли на автоматическом биохимическом анализаторе «Синхрон-9» фирмы «Векман» (США)).

Кроме того в крови исследовалось содержание нитритов, эндотелина-1 и активность АПФ. Концентрацию нитритов в плазме крови определяли с помощью реактива Грисса по интенсивности окраски при длине волны 540 нм на фотометре V-50 (Германия) Уровень нитритов использовался как косвенный показатель продукции оксида азота (NO). Содержание эндотелина-1 в плазме определяли с помощью иммуоферментного набора эндотелин (1-21) «Biomedica Gruppe» (Кат. № 442-0052) по протоколу, рекомендуемому фирмой, на иммуоферментном анализаторе «Stat Fax-2600» «Labsystems» (США). Уровень активности АПФ оценивали энзиматическим методом, используя набор ACE «Buhlmann» (Кат. № KK-ACE), по протоколу, рекомендуемому фирмой, с помощью фотометра 5010 (Германия).

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью пакета программ «Statistica 6 for Windows». Сравнение средних значений количественных, нормально распределенных признаков проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа вариаций (*LSD-критерий Фишера*) после проверки гипотезы на однородность дисперсий (*тест Левена*). В тех случаях, когда изучаемые показатели не отвечали нормальному закону распределения вероятностей, для проверки статистических гипотез применяли непараметрический критерий Манна – Уитни с поправкой Бонферрони.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В связи с тем, что в трех группах изучалась достаточно большая совокупность показателей крови, нами был проведен дискриминантный статистический анализ, чтобы выявить те признаки, которые бы наиболее полно отражали различие между группами.

В результате этого анализа было установлено семь показателей крови, которые наиболее значимо различали группы между собой (табл. 1). Причем, судя по величине частной лямбды Уилкса, наибольший вклад в общую дискриминацию вносили уровень активности АПФ (0,251) и ф. Виллебранда (0,439) и концентрация фибриногена (0,613). Дальнейшее проведение канонического анализа с пошаговым критерием для канонических корней определило две независимые статистически значимые дискриминантные функции (первые две строки). Стандартизированные коэффициенты дискриминантных функций, по которым устанавливалась величина и направление вкладов переменных в каждую функцию, показали, что наибольший вклад в 1-ю дискриминантную функцию (корень 1) вносили переменные АПФ (-1,461) и ф. Виллебранда (-1,209), а во 2-ю (корень 2) – фибриноген (-0,946) и МДАпл (-0,505).

Диаграмма рассеяния канонических значений для двух дискриминантных функций (рис. 1) показывает, что 1-я дискриминантная функция определяла наибольшее расстояние между центроидами 2-х групп, которые принадлежали донорам и больными ГБ, а канонические значения для больных СН занимали промежуточное положение. В то же время 2-я дис-

Таблица 1

Результаты дискриминантного анализа совокупности исследуемых показателей крови у доноров, больных ГБ и СН

Удаленные корни	собствен. значение	R канонич.	$\lambda$ Уилкса	$\chi^2$ критерий	$p$
0	5,285	0,917	0,062	86,36	0,0000
1	1,580	0,783	0,388	29,38	0,0001
Переменные в модели	частная $\lambda$ Уилкса	F	$p$	корень 1	корень 2
АПФ	0,251	41,834	0,0000	-1,461	-0,053
Фибриноген	0,613	8,843	0,0011	0,023	-0,946
ф. Виллебранда	0,439	17,886	0,0000	-1,209	-0,495
НСМпт	0,772	4,137	0,026	-0,523	0,300
ЛПНП	0,694	6,184	0,006	-0,623	0,495
МДАпл	0,678	6,653	0,004	-0,642	-0,505
Плазминоген	0,748	4,715	0,017	0,607	0,392

Примечание: для 1-го и 2-го корней представлены стандартизированные коэффициенты дискриминантных функций.

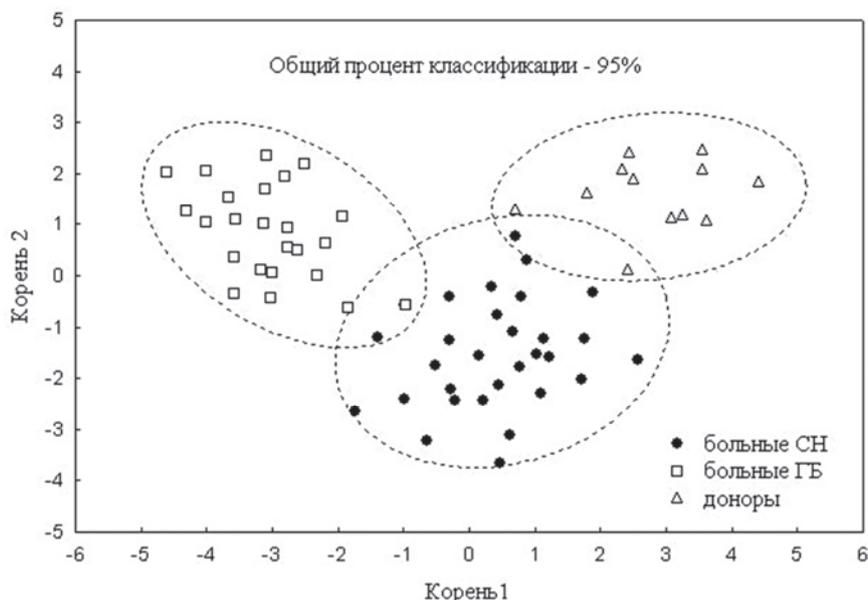


Рис. 1. Диаграмма рассеяния канонических значений, принадлежащих различным группам наблюдения. Пунктирные линии – доверительный диапазон  $\pm 0,95$ .

критерия функция обуславливала в большей степени различие между больными СН и двумя другими группами. Здесь же следует отметить выявленный высокий общий процент классификации (95 %).

Как видно из модели дискриминантной функции в нее не вошло большинство исследуемых показателей, в том числе и ПСЭ. Последнее было связано с тем, что во всех группах наблюдения этот показатель имел одну и ту же среднюю величину (3,4), т.е. в пределах нижней границы, отражающей нормальную сферичность эритроцитов. Тем не менее, у трети исследуемых лиц в каждой из 3-х групп была установлена склонность сфероцитозу (ПСЭ < 3,4), что послужило основанием для выявления факторов крови связанных с данным явлением как у доноров, так у больных ГБ и СН.

С этой целью в каждой группе были сформированы выборки из 2-х подгрупп, уровень факторов крови в которых (кроме ПСЭ) был равен и ниже (1 подгруппа) или выше (2 подгруппа) их средних величин.

Таким образом, эти подгруппы выступали в качестве группирующих (независимых) переменных, а ПСЭ – как зависимая величина. При сравнении данных отклонения ПСЭ в каждой из подгрупп у доноров и больных были получены неоднородные результаты.

Так, у доноров с пониженным содержанием нитритов в сыворотке крови и МДАэр показатель сферичности эритроцитов был в пределах нормальных границ (рис. 2). В то же время лица, у которых эти параметры крови превышали найденные средние величины, имели склонность к сфероцитозу. Сопряженность и одинаковая направленность данных явлений, по-видимому, неслучайна, поскольку хорошо известно, что NO (нитриты) легко проникает через мембраны эритроцитов, где может связываться с гемоглобином, образуя S-нитрозогемоглобин [7] с одной стороны, с другой – вызывать процессы пероксидации эритроцитарной мембраны, повышая, тем самым, ее проницаемость для электролитов [11].

Результаты сравнения величины ПСЭ у больных ГБ показали, что сфероцитоз мог развиваться у той категории больных, у которых была повышена спонтанная агрегация и адгезия тромбоцитов (табл. 2). Кроме того, склонность к сфероцитозу наблюдалась

также и у больных, имеющих высокий уровень СРБ, МСГ, вязкости крови в сосудах мелкого калибра микроциркуляторного русла ( $v_{20}$ ) и активности АЛТ крови. Примечательно, что этот же эффект со стороны эритроцитов был отмечен в группе больных ГБ, у

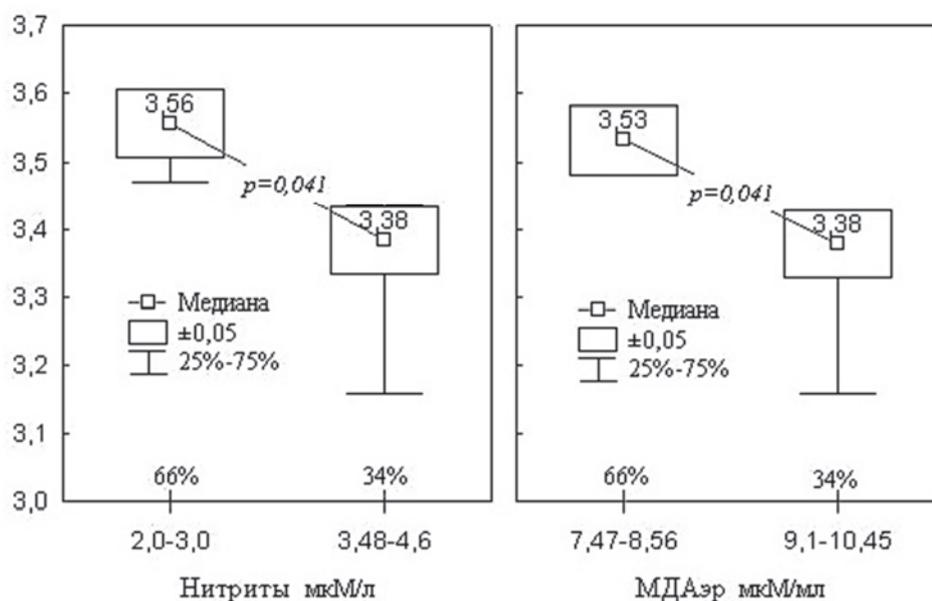


Рис. 2. Величина ПСЭ у доноров, имеющих разные параметры уровня Нитритов в сыворотке крови и МДА эритроцитов. Здесь и в таблицах 2 и 3 в каждой подгруппе даны минимальные и максимальные параметры независимых переменных и процент распределения лиц в этих подгруппах.  $p$  – значимость различий (критерий Манна – Уитни).

Таблица 2  
Величина ПСЭ у больных ГБ, имеющих разные параметры уровня некоторых показателей крови

Показатели	1 подгруппа	2 подгруппа	$p$
<b>СПагр.тр.</b> отн.ед.	0,6–1,4	1,8–4,4	$p(F)$
% (к-во пациентов)	66 (16)	34 (8)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,47 $\pm$ 0,12	3,32 $\pm$ 0,09	0,007
<b>АДГтр</b> %	0,5–6,2	9,9–22	$p(F)$
% (к-во пациентов)	50 (12)	50 (12)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,47 $\pm$ 0,10	3,36 $\pm$ 0,13	0,041
<b>Mg<sup>2+</sup></b> мМ/л	0,7–0,87	0,88–1,0	$p(F)$
% (к-во пациентов)	46 (11)	54 (13)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,33 $\pm$ 0,11	3,48 $\pm$ 0,11	0,004
<b>СРБ</b> мг/л	0,8–5,6	6,3–12,8	$p(F)$
% (к-во пациентов)	66 (16)	34 (8)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,46 $\pm$ 0,12	3,34 $\pm$ 0,13	0,048
<b>МСГ</b> %	0,1–5,5	5,8–14	$p(U)$
% (к-во пациентов)	66 (16)	34 (8)	
ПСЭ $Me (Q_{25}–Q_{75})$	3,44 (3,39–3,52)	3,37 (3,29–3,41)	0,039
<b>v<sub>20</sub></b> мПа $\times$ с <sup>-1</sup>	9,0–11,9	12,1–14,3	$p(U)$
% (к-во пациентов)	50 (12)	50 (12)	
ПСЭ $Me (Q_{25}–Q_{75})$	3,47 (3,4–3,52)	3,37 (3,29–3,41)	0,026
<b>АЛТ</b> мЕ/л	22–42	43,9–126	$p(U)$
% (к-во пациентов)	59 (14)	41 (10)	
ПСЭ $Me (Q_{25}–Q_{75})$	3,44 (3,39–3,52)	3,38 (3,29–3,42)	0,039

Примечание: здесь и в табл. 3  $Me(Q_{25}–Q_{75})$  – медиана и квартили,  $p(F)$  –  $LSD$ -критерий Фишера,  $p(U)$  – критерий Манна – Уитни.

которых уровень  $Mg^{2+}$  в крови был равен или меньше найденной средней его величины. По-видимому, недостаток магния мог влиять на активность таких сократительных белков мембраны, как  $\beta$ -актин, тропомодулин, строматин и тропомиозин [8, 13], снижая тем самым деформабильность эритроцитов [5].

В отличие от больных ГБ у пациентов, страдающих СН, были выявлены другие факторы крови, различный уровень которых в той или иной степени был связан с изменением сферичности эритроцитов. У данной категории больных явления сфероцитоза могли развиваться в том случае, когда у них либо повышалась вязкость крови в сосудах микроциркуляции крупного калибра ( $v100$ ) или отмечался подъем уровня мочевой кислоты и активности ф. Виллебранда, либо наблюдалось снижение выработки оксида азота или синтеза альбумина и вязкости крови в сосудах микроциркуляции мелкого калибра ( $v10$ ) (табл. 3).

Поскольку факторы системы крови организма функционируют не изолированно, а находятся в постоянном взаимодействии и влиянии друг на друга, важно было понять – как и в какой степени это взаимодействие могло быть связано с изменением сферичности эритроцитов, при этом выявить адекватные модели множественной регрессии для каждой изучаемой группы.

Статистическая обработка данных показала, во-первых, общую высокую сопряженность ( $R^2$ ) между изменением сферичности эритроцитов и найденными факторами крови во всех трех группах наблюдения и, во-вторых, определила те факторы крови, изменение величины которых было наиболее согласовано с отклонениями уровня ПСЭ (табл. 4). Как видно из таблицы, такими факторами являлись: у до-

норов – Нитриты и МДАэр; у больных ГБ –  $Mg^{2+}$ , СРБ и АДГтр, а у больных СН – Альбумин и АГРтр с АДФ. При этом расчеты показали, что избыточное образование оксида азота в крови и продуктов ПОЛ в эритроцитах у доноров, повышение уровня С-реактивного белка и адгезии тромбоцитов у больных ГБ могло приводить к развитию сфероцитоза. Одновременное увеличение концентрации в крови магния у больных ГБ или нормальный уровень альбумина и процесса АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных СН значительно препятствовали развитию этого явления со стороны красных клеток крови вплоть до формирования у последних planoцитоза ( $ПСЭ > 3,9$ ).

Для того чтобы установить, какие из факторов крови в наибольшей степени могли способствовать дальнейшему развитию сфероцитоза эритроцитов, мы провели повторный анализ множественной регрессии, но уже в группах больных ГБ и СН, у которых показатель сферичности был меньше 3,4 усл. ед. При этом были выявлены следующие закономерности:

$$\text{больные ГБ: } ПСЭ = 4,0 - 0,004 \times СРБ - 0,08 \times v100 - 0,004 \times АДГтр; R^2 = 0,93, p = 0,002$$

$$\text{больные СН: } ПСЭ = 3,99 - 0,01 \times МДАэр - 0,03 \times ЛПНП - 0,01 \times \text{Альбумин}; R^2 = 0,95, p = 0,002$$

Полученные адекватные регрессионные модели показывают, что повышение уровня любого из выявленных факторов крови в обеих группах данной категории больных могло усиливать процесс образования сфероцитов. Однако набор этих факторов у больных ГБ и СН существенно различался между собой. Кроме того, неоднозначна была и степень их влияния на процессы развития сфероцитоза в каждой из групп (рис. 3). Так, у больных ГБ (рис. 3А) снижение ПСЭ было наиболее тесно согласовано с повышением уровня

**Таблица 3**  
**Величина ПСЭ у больных СН, имеющих разные параметры уровня некоторых показателей крови**

Показатели	1 подгруппа	2 подгруппа	$p$
<b>Нитриты</b> мкМ/л	0,3–2,3	2,7–7,0	$p(F)$
% (к-во пациентов)	50 (15)	50 (15)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,35 $\pm$ 0,072	3,45 $\pm$ 0,11	
<b>v10</b> мПа $\times$ с <sup>-1</sup>	11,3–15,0	15,4–18	$p(F)$
% (к-во пациентов)	60 (18)	40 (12)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,36 $\pm$ 0,09	3,45 $\pm$ 0,11	
<b>v100</b> мПа $\times$ с <sup>-1</sup>	5,7–7,5	7,8–10	$p(F)$
% (к-во пациентов)	40 (12)	60 (18)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,46 $\pm$ 0,08	3,37 $\pm$ 0,10	
<b>Мочевая к-та</b> мм/л	0,20–0,38	0,39–0,55	$p(F)$
% (к-во пациентов)	46 (14)	54 (16)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,43 $\pm$ 0,10	3,34 $\pm$ 0,09	
<b>Альбумин</b> г/л	35–39	40–46	$p(F)$
% (к-во пациентов)	56 (17)	44 (13)	
ПСЭ $M \pm Std.Dev.$	3,38 $\pm$ 0,08	3,48 $\pm$ 0,08	
<b>ф. Виллебранда</b> %	37–140	160–339	$p(U)$
% (к-во пациентов)	57 (17)	43 (13)	
ПСЭ $Me (Q25-Q75)$	3,42 (3,4–3,48)	3,36 (3,28–3,4)	

Таблица 4

Множественная регрессионная связь ПСЭ с различными факторами крови у доноров, больных ГБ и СН

Группа	Модель множественной регрессии	R <sup>2</sup>
доноры	4,98 · Нитриты (0,75) -0,086 · МДАэр (0,19) -0,215 · МДАпл (0,03)	0,97 p = 0,0000
больные ГБ	-0,005 · СРБ (0,17) -0,006 · АДГтр (0,16) +0,112 · ЛПВП (0,06) 2,40 +1,095 · Mg <sup>2+</sup> (0,52)	0,91 p = 0,0000
больные СН	+0,021 · Эндотелин-1 (0,07) +0,038 · v50 (0,06) -0,417 · Мочевая к-та (0,08) -0,028 · v100 (0,05) 1,97 +0,033 · Альбумин (0,38) +0,003 · АГГтр с АДФ (0,22)	0,86 p = 0,0000

Примечание: R<sup>2</sup> – общий коэффициент детерминации. В скобках даны частные коэффициенты детерминации. Значимость свободных членов и всех коэффициентов независимых переменных, а также частных детерминаций – p < 0,05.

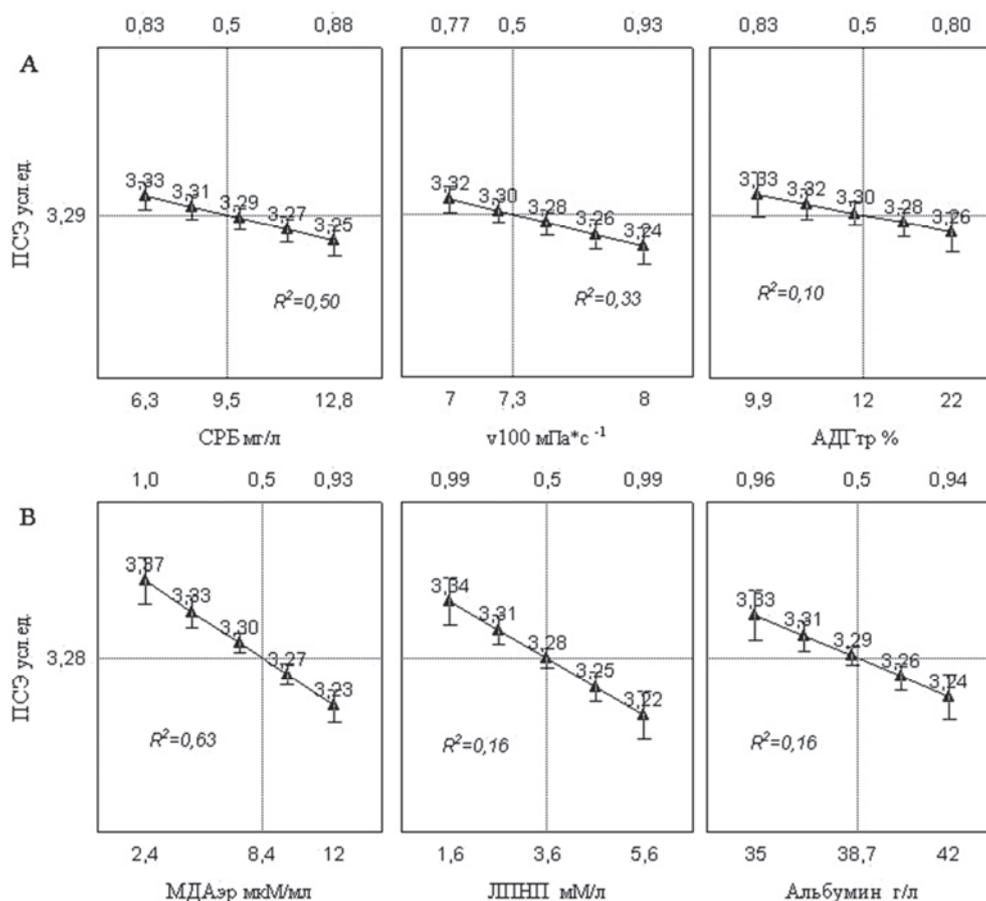


Рис. 3. Характер множественной регрессионной связи ПСЭ с различным уровнем независимых факторов у больных ГБ (А) и СН (В), эритроциты которых имели тенденцию к развитию сфероцитоза (ПСЭ < 3,4). По оси абсцисс: наверху – апостериорная вероятность отклонения зависимой переменной при изменении величины предиктора, внизу – величина предиктора (минимальные и максимальные найденные значения). Пересекающиеся линии: горизонтальная линия – средняя величина зависимой переменной; вертикальная линия – независимой переменной. Линии при маркерах – доверительные интервалы (±0,95). На каждой диаграмме представлен частный коэффициент детерминации независимой переменной (p < 0,05).

С-реактивного белка (R<sup>2</sup> = 0,50) и вязкости крови в сосудах микроциркуляции крупного калибра (R<sup>2</sup> = 0,33) с достаточно высокой вероятностью падения этого показателя эритроцитов (соответственно p = 0,88 и p = 0,93). В то же время у больных СН (рис. 3В) высокая

вероятность (p = 0,93) развития сфероцитоза могла быть связана с избыточным накоплением в эритроцитах малонового диальдегида (R<sup>2</sup> = 0,63).

Выявленное различие факторов крови, связанных с развитием сфероцитоза у больных данной

категории, было обусловлено, по-видимому, патогенетической сущностью ГБ и ИБС, которая определяла разные источники патогенного воздействия на мембрану эритроцитов. У больных ГБ таким основным источником был высокий уровень С-реактивного белка, хотя активация данного фермента, вероятно, сопровождалась усилением выработки оксида азота.

Известно, что синтез оксида азота осуществляется не только сосудистым эндотелием с помощью eNO-синтазы (eNOS), но и другого фермента – индуцированной iNO-синтазы (iNOS), возбуждение которой реализуется под воздействием воспалительных агентов, провоспалительных цитокинов. При этом клетки-продуценты выделяют во много раз больше NO, чем под влиянием эндотелиальной eNOS [6]. По всей видимости, возрастание уровня NO при увеличении базовых величин СРБ и отражало сфероцитарный эффект этого фермента. В свою очередь, повышенная выработка NO могла приводить к нарушению реологических свойств крови [5] и потенцировать влияние данного радикала.

Как известно, одним из основных атерогенных факторов ИБС является радикальное окисление с участием активированных кислородных метаболитов и накоплением в крови, в том числе, продуктов ПОЛ и окисленных ЛПНП. Неслучайно повышение уровня именно этих факторов у больных СН данной категории сопровождалось патогенным воздействием их на мембрану эритроцитов и развитием сфероцитоза. Нельзя также исключить, что этот эффект мог быть связан и с недостаточностью у них как общей, так и эритроцитарной антиоксидантной защиты в связи системным образованием АКМ. Кроме того, показано, что в состоянии окислительного стресса атаке активных форм кислорода подвергаются в первую очередь не липиды, а белки плазматических мембран [3]. В связи с этим модификация цитоскелетных белков эритроцитов и нарушение их структурно-функциональных взаимосвязей могли способствовать появлению пула сфероцитарных клеток, ухудшающих кровотоки в системе микроциркуляции органов и тканей. Кроме того, увеличение диаметра и объема циркулирующих в крови эритроцитов, обусловленное повышением содержания воды в эритроцитах больных артериальной гипертензией [2] может приводить к повышению уровня гидростатического давления крови и напряжения сдвига на эндотелий сосудистой стенки, влияя, тем самым, на продукцию оксида азота и эндотелина 1. С другой стороны, это способствует разрушению эритроцитов при артериальной гипертензии, высвобождению гемоглобина, который образует комплексы с оксидом азота, что приводит к вазоконстрикции [15].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что развитие сфероцитоза у исследуемых нами больных ГБ и СН было тесно связано с уровнем радикальных окислительных процессов. Вместе с тем у разных групп больных на мембрану эритроцитов оказывали влияния различные факторы патогенного воздействия. Так, у больных ГБ увеличение пула сфероцитарных клеток было закономерно сопряжено с повышенным образованием оксида азота, в то

время как у больных СН явление сфероцитоза было обусловлено увеличением концентрации активных форм кислородных метаболитов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Денисов Е.Н. Изменение параметров циркулирующих эритроцитов у больных артериальной гипертензией // Вестник ОГУ. – 2006. – № 4. – С. 127–129.
3. Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях // Укр. биохим. журн. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5–18.
4. Карпов Р.С., Мордовин В.Ф. Диагностика и лечение ишемической болезни сердца у женщин: НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН (Томск). – Омск: Агентство Курьер, 2002. – 196 с.
5. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. – Чита: Экспресс-издательство, 2010. – 832 с.
6. Марков Х.М. Оксид азота и ишемическая болезнь сердца // Докл. Российской академии медицинских наук. – 2009. – № 2. – С. 40–46.
7. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З., Бондарь И.А., Труфакин В.А. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.
8. Муравьев А.В., Чопоров С.В. Гемореология. – Ярославль, 2009. – 180 с.
9. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В. Структурная дезорганизация мембраны эритроцита как универсальная типовая реакция целостного организма при болезнях дисрегуляции // Дисрегуляционная патология / Под ред. Г.Н. Крыжановского. – М: Медицина, 2002. – С. 395–405.
10. Пивоваров Ю.И., Кузнецова Э.Э., Корякина Л.Б., Горохова В.Г. и др. Реакция мембраны эритроцитов у больных стенокардией напряжения и гипертонической болезнью при кратковременной ишемии // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2013. – № 2 (54). – С. 39–45.
11. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии // Успехи физиологических наук. – 2004. – № 1. – С. 53–65.
12. Способ оценки устойчивости эритроцитов к функциональной нагрузке: пат. 2371723 Рос. Федерация: МПК G01N 33/49, G01N 33/50 / Пивоваров Ю.И., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Корякина Л.Б., Курильская Т.Е., Рунович А.А.; заявитель и патентообладатель Гос. учреждение Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии ВСНЦ СО РАМН. - №2008108370/15, заявл. 03.03.2008; опубл. 27.10.2009, Бюл. 30. – 1 с.
13. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки. Руководство для врачей. – М.: Бином-Пресс, 2006. – 256 с.
14. Шперлинг И.А. Патоморфоз и патофизиология эритроцита при воздействии гемотропных ксе-

нобиотиков : автореф. дис. ... док. мед. наук. – Томск, 2006. – 46 с.

15. Sampei K., Ulatowski J.A., Asano Y., Kwansa H. et al. Role of nitric oxide scavenging in vascular response to cell-free hemoglobin transfusion // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – Vol. 289 (3). – P. 1191–1201.

#### REFERENCES

1. Andreyeva L.I. Modification of the method of definition of lipids in the test with thiobarbituric acid // *Laboratornoye delo.* – 1988. – N 11. – P. 41–43.

2. Denisov E.N. Changes of parameters of circulating erythrocytes in patients with arterial hypertension // *Vestnik OGU.* – 2006. – N 4. – P. 127–129.

3. Dubinina E.E., Pustigina A.V. Oxidative modification of proteins, its role in pathological states // *Ukrainskiy biokhimicheskiy zhurnal.* – 2008. – Vol. 80, N 6. – P. 5–18.

4. Karpov R.S., Mordovin V.F. Diagnostics and treatment of coronary artery disease in women: Scientific Institute of Cardiology of Tomsk Scientific Center SB RAMS (Tomsk). – Omsk: Agentstvo Kuryer, 2002. – 196 p.

5. Kuznik B.I. Cellular and molecular regulative mechanisms of hemostasis system in norm and pathology. – Chita: Ekspres-izdatelstvo, 2010. – 832 p.

6. Markov Kh.M. Nitric oxide and coronary artery disease // *Dokladi Rossiyskoy Akademii medicinskih nauk.* – 2009. – N 2. – P. 40–46.

7. Menshchikova E.B., Zenkov N.K., Lankin V.Z., Bondar I.A., Trufakin V.A. Oxidative stress: Pathological states and disorders. – Novosibirsk: ARTA, 2008. – 284 p.

8. Muraviov A.V., Choporov S.V. Hemorheology. – Yaroslavl, 2009. – 180 p.

9. Novitskiy V.V., Ryazantseva N.V. Structural disorganization of erythrocytic membrane as universal typical reaction of integral organism at dysregulation disorders // *Dysregulation pathology / Ed. G.N. Krizhanovskiy.* – Moskva: Medicina, 2002. – P. 395–405.

10. Pivovarov Yu.I., Kuznetsova E.E., Koryakina L.B., Gorokhova V.G. et al. Reaction of erythrocytic membrane in patients with exertional angina and hypertensive disease at short-term ischemia // *Tromboz, gemostaz i reologiya.* – 2013. – N 2 (54). – P. 39–45.

11. Riazantseva N.V., Novitskiy V.V. Typical disorders of molecular organization of erythrocyte membrane at somatic and psychic pathology // *Uspehi fiziologicheskikh nauk.* – 2004. – N 1. – P. 53–65.

12. Method of evaluation of resistance to functional load: Patent 2371723 Russian Federation: МПК G01N 33/49, G01N 33/50 / Pivovarov Yu.I., Kuznetsova E.E., Gorokhova V.G., Koryakina L.B., Kuril'skaya T.E., Runovich A.A.; declarant and patent holder State Establishment Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery ESSC SB RAMS. – N 2008108370/15, appl. 03.03.2008; publ. 27.10.2009, Bul. 30. – 1 p.

13. Faller D.M., Shilds D. Molecular cell biology. Guide for physicians. – Moskva: Binom-Press, 2006. – 256 p.

14. Sperling I.A. Pathomorphism and pathophysiology of erythrocyte under influence of hemotropic xenobiotics: abstract of doctorate dissertation. – Tomsk, 2006. – 46 p.

15. Sampei K., Ulatowski J.A., Asano Y., Kwansa H. et al. Role of nitric oxide scavenging in vascular response to cell-free hemoglobin transfusion // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – Vol. 289 (3). – P. 1191–1201.

#### Сведения об авторах

**Пивоваров Юрий Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник научного отдела коронарного атеросклероза ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; тел.: 8 (3952) 46-55-56)

**Курильская Татьяна Ефимовна** – доктор медицинских наук, заведующая научным отделом коронарного атеросклероза ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; тел.: 8 (3952) 46-55-56)

**Сергеева Анна Сергеевна** – старший научный сотрудник научного отдела коронарного атеросклероза ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; тел.: 8 (3952) 46-55-56; e-mail: sergeeva1111@yandex.ru)

**Корякина Лариса Борисовна** – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии и гемостаза ФГБУ «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» СО РАМН (664079, г. Иркутск, мкр. Юбилейный, 100; тел.: 8 (3952) 40-77-47)

#### Information about the authors

**Pivovarov Yuriy Ivanovich** – M.D., professor, leading researcher of the scientific department of coronary atherosclerosis of “Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery” SB RAMS (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel.: 8 (3952) 46-55-56)

**Kuril'skaya Tatyana Yefimovna** – M.D., the head of the scientific department of coronary atherosclerosis of “Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery” SB RAMS (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel.: 8 (3952) 46-55-56)

**Sergeyeva Anna Sergeyevna** – senior researcher of the scientific department of coronary atherosclerosis of “Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery” SB RAMS (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel.: 8 (3952) 46-55-56; e-mail: sergeeva1111@yandex.ru)

**Koryakina Larisa Borisovna** – candidate of medical sciences, senior researcher of the laboratory of microbiology and hemostasis of “Scientific Center of Reconstructive and Restorative Surgery” SB RAMS (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel.: 8 (3952) 40-77-47)