

Структурно-функциональное состояние эритроцитов у детей с хронической болезнью почек

А. В. Сабирова, к.м.н., доцент кафедры госпитальной педиатрии, клинической иммунологии и аллергологии¹

Д. К. Волосников, д.м.н., проф., зав. кафедрой госпитальной педиатрии, клинической иммунологии и аллергологии¹

О. В. Матяш, к.м.н., доцент, руководитель аккредитационного центра²

¹Институт ДПО ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск

²ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, г. Москва

Structural-functional state of erythrocytes in children with chronic kidney disease

A. V. Sabirova, D. K. Volosnikov, O. V. Matyash

South Ural State Medical University, Chelyabinsk; Central State Medical Academy of the Administrative Department of the President of Russia, Moscow; Russia

Резюме

Большое значение в развитии и прогрессировании хронической болезни почек (ХБП) придается структурно-функциональному состоянию эритроцитов. Цель данной работы — изучить показатели красной крови и морфологические типы эритроцитов периферической крови у детей с ХБП. Обследованы 75 детей с ХБП в возрасте 5–16 лет, контрольную группу составили 25 здоровых детей того же возрастного диапазона. Анализ морфометрических параметров красных клеток периферической крови — средний объем (MCV) и диаметр эритроцита, среднее содержание (MCH) и средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), проводили с помощью гематологического счетчика Gobas Micros 18 (Roche). Окраска мазков производилась по Романовскому-Гимзе. Проведены морфометрические исследования клеток красной крови с помощью программы Морфология 5.2 и конфокальная микроскопия эритроцитов на Конфокальном микроскопе LSM-710, производство Carl Zeiss. Подтверждена тенденция к выраженному пойкилоцитозу при ХБП. Установлено, что у детей с хронической почечной недостаточностью (ХПН) на начальной стадии нарушается распределение эритроцитов по диаметру, повышается содержание микроцитов, наблюдается выраженный пойкилоцитоз с повышением содержания необратимо трансформированных элементов. Выявленные особенности могут служить дополнительным критерием для диагностики хронической почечной недостаточности на начальной стадии.

Ключевые слова: эритроциты, морфология эритроцитов, хронические болезни почек, дети.

Summary

During Chronic Kidney Disease (CKD) development and progression emphasis is placed on structural-functional state of red blood cells. The aim of this paper is to examine red blood values and red blood cells morphological type in peripheral blood among children with CKD. 75 children with CKD aged 5–16 years were examined. The control group consisted of 25 healthy children of the same age range. Analysis of the morphometric parameters of red peripheral blood cells — mean volume (MCV) and erythrocyte diameter, mean content (MCH) and mean hemoglobin concentration in the erythrocyte (MCHC), were performed using a Gobas Micros (Roche) hematology counter. Smears were marked according to Romanovsky-Giemsa. Morphometric studies of red blood cells were carried out using the Morphology 5.2 program and red blood cell confocal microscopy on a LSM-710 Confocal Microscope, manufactured by Carl Zeiss. The tendency to poikilocytosis in CKD was confirmed. We identified that among children with CKD the distribution of red blood cells in diameter is disturbed, the content of microcytes increases, poikilocytosis is observed with an increase in the content of irreversibly transformed elements. The revealed features may serve as an additional criterion for the diagnosis of chronic kidney insufficiency at the early stage.

Key words: red blood cells, red blood cells morphology, Chronical Kidney Disease, children.

Хроническая болезнь почек (ХБП), выявляемая у лиц различного возраста, включая детский, остается важной медицинской и социальной проблемой [1, 2, 3]. Для детской нефрологии сохраняет актуальность как скорость прогрессирования хронических заболеваний почек, так и их ранняя диагностика. Распространенность дисфункции почек значительно больше, чем предполагалось ранее, и достигает 5–11 % в общей популяции, а некоторые исследователи (K. Norris,

C. Vaughan, 2003) полагают, что наблюдающийся в настоящее время прогрессивный рост числа пациентов с терминальной почечной недостаточностью приобретает характер пандемии [6]. Особая актуальность проблемы в целом обусловлена тем, что подавляющее большинство людей, страдающих хроническими заболеваниями почек — лица молодого и среднего возраста, то есть наиболее работоспособного и творчески активного периода жизни. Следует отметить, что большинство заболе-

ваний почек имеют начало в детстве [7]. Темпы прогрессирования ХБП при нефрологических заболеваниях существенно различаются [8]. Поэтому оценка скорости прогрессирования ХБП и ранняя диагностика ХПН продолжает оставаться актуальной проблемой в детской нефрологии [4, 5]

Как известно, ХПН всегда сопровождается развитием тяжелой анемии, однако механизм ее развития изучен недостаточно, в связи с этим наше внимание было привле-

чено к этой проблеме. Современные источники указывают на различный характер изменения морфологии эритроцитов при почечных заболеваниях [9]. Как форма, так и диаметр эритроцитов могут изменяться в различных направлениях. Более конкретная картина характерна только для хронической почечной недостаточности: расширенное основание эритрогистограммы, выраженный пойкилоцитоз, значительное число сфероцитов [10].

Анализ состава и количества эритроцитов, как наиболее многочисленной группы клеток крови, имеет большую диагностическую ценность. Клинические исследования красной крови проводятся при всех формах почечных заболеваний. Значимость таких исследований в понимании механизмов взаимодействия почек и системы крови у детей с хронической почечной недостаточностью несомненна.

Следует иметь в виду, что в развитии и прогрессировании ХБП структурно-функциональному состоянию эритроцитов придается большое значение.

Как количественные показатели, так и морфологические характеристики клеток крови могут указывать на определенный генез заболевания, отражать функциональное состояние внутренних органов, иметь прогностическое значение [11].

В настоящее время изменение морфологических параметров клеток крови человека, в том числе эритроцитов, проецируют на физиологические свойства, что наряду с функциональной характеристикой дает полноценную информацию об их участии в поддержании гомеостаза.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение показателей и морфологических типов эритроцитов периферической крови у детей с хроническими болезнями почек (хронический пиелонефрит, хронический гломерулонефрит, ХПН I стадия).

Материалы и методы исследования

Обследованы 75 детей с ХБП в возрасте 5–16 лет в стадии ремиссии, контрольную группу срав-

нения составили 25 здоровых детей того же возраста. Проведен анализ морфометрических параметров клеток красного ряда периферической крови: средний объем (MCV) и диаметр эритроцита, среднее содержание (MCH) и средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC); исследования проведены с помощью гематологического счетчика Gobas Micros 18 (Roche). Помимо этого проведен анализ 3 групп мазков периферической крови, взятой у детей с ХБП:

1. группа детей с хроническим пиелонефритом в стадии ремиссии (ХБП I–II стадия) (25 мазков)
2. группа детей с хроническим гломерулонефритом в стадии ремиссии (ХБП I–II стадия) (25 мазков)
3. группа детей с хронической почечной недостаточностью I стадия (ХБП III стадия) (25 мазков)

Полученные результаты были сопоставлены с результатами эритроцитов условно-здоровых детей (25 мазков).

Окраска мазков производилась по Романовскому-Гимзе. Морфометрические исследования клеток красной крови (эритроцитов) проводились в лаборатории ФГБУН Института Иммунологии и физиологии УрО РАН (г. Екатеринбург) с помощью программы «Морфология 5.2»; проводилась конфокальная микроскопия эритроцитов на Конфокальном микроскопе LSM-710, производство Carl Zeiss.

Были изучены количество эритроцитов, их диаметр и формы.

1. Число эритроцитов.

Подсчет эритроцитов осуществляли в 5 полях зрения, расположенных в мазке по диагонали, с последующим пересчетом их количества на 1 л крови

Помимо этого, был проведен расчет количества пойкилоцитов в 5 полях зрения на мазок, учитывались все встречающиеся измененные формы и определялось процентное содержание каждой формы пойкилоцитов.

2. Расчет среднего диаметра эритроцитов произведен с помощью программы Морфология 5.2 в 100 эритроцитах каждого мазка, устанавливая средний, максимальный

и минимальный размер. По результатам строили кривую Прайс-Джонса: по оси абсцисс откладывался диаметр, по оси ординат — количество эритроцитов. Пик кривой в норме приходится на нормальный диаметр (около 7.5 мкм).

3. Количество микро-, нормо- и макроцитов выражали в %.

Высчитывали процентное соотношение нормоцитов, микро- и макроцитов. Статистическая обработка материала проведена с использованием пакета «STATISTICA- 6.0». Статистический анализ проведен с использованием непараметрических методов — двухстороннего теста Фишера, теста Манна-Уитни. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Данные сравнительной оценки показателей морфометрических параметров эритроцитов детей с ХБП и условно здоровых детей свидетельствуют, что показатели морфометрических параметров эритроцитов периферической крови детей с ХБП имеют статистически достоверные различия по следующим параметрам: более низкие показатели HGB, MCV, MCH в группах детей с хроническим гломерулонефритом и хронической почечной недостаточностью. В группе детей с хроническим пиелонефритом достоверно более низкие показатели MCV, RDW, MCH. Однако, следует отметить, во всех группах сравнения показатели находились в пределах нормы.

При сравнительной оценке концентрации эритроцитов не обнаружено достоверных различий: во всех группах показатель был в пределах нормы.

В группах детей с хроническим гломерулонефритом и хроническим пиелонефритом, при сравнении с условно здоровыми детьми, основная масса значений близка к $4-4.5 \cdot 10^{12}/л$, что соответствует середине диапазона нормы для детей данной возрастной группы. У детей с ХПН наблюдается большой разброс значений показателя со средним значением 4.08 ± 0.63 , что ниже среднего показателя в остальных группах.

Таблица 1
Сравнительная оценка морфометрических параметров эритроцитов

Показатели	1 группа Хр. пиелонефрит n = 25	2 группа Хр. гломерулонефрит n = 25	3 группа ХПН, n = 25	4 группа здоровые контроль, n = 25	P
HGB — Концентрация гемоглобина (г/л)	141 ± 22.57	128 ± 13.71	115 ± 32.38	143 ± 11.98	P3–4 < 0.05 P2–4 < 0.05
MCV Средний объем эритроцита (fl)	82.62 ± 3.39	76.12 ± 13.05	80.26 ± 8.11	84.07 ± 3.64	P2–4 > 0.05 P3–4 > 0.05 P1–4 > 0.05
RDW Показатель гетерогенности эритроцитов по объему (%)	11.93 ± 2.57	14.57 ± 2.80	13.71 ± 2.1	13.03 ± 0.51	P1–4 < 0,005
MCH Среднее содержание гемоглобина в эритроците (пг)	28.37 ± 0.61	27.86 ± 1.76	27.61 ± 3.55	29.19 ± 1.47	P1–4 > 0,05 P2–4 > 0,05
MCHC Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (г/дл).	346.75 ± 9.08	349.17 ± 8.68	343 ± 15.44	346 ± 5.03	P > 0,05

При сравнительной оценке диаметра эритроцитов, все полученные значения расположены в пределах нормы, кроме детей с хроническим пиелонефритом, у которых диаметр эритроцитов оказался статистически достоверно ниже по сравнению с другими группами (7.14 ± 0.06 мк). Помимо этого, более низкие значения диаметра эритроцитов были в группе детей с ХПН (7.35 ± 0.32 мк). При сравнительной оценке распределения эритроцитов по диаметру во всех группах сравнения показатели оказались близки к нормальному распределению. Однако, в группе детей с ХПН количество нормоцитов было более низким.

Что касается соотношения микро- и макроцитов, только в группе контроля оно является нормальным — около 12 % на обе фракции: $12.33 \pm 0,9$ % микроцитов, $10.47 \pm 0,9$ % макроцитов, что соответствует варианту нормы. В группах детей с ХБП микроциты преобладали над макроцитами.

Во всех трех группах детей с ХБП получены повышенные показатели содержания измененных форм эритроцитов. Наибольшее значение их по выраженности пойкилоцитоза обнаружено в группе ХПН — 14.36 ± 11.11 %. Однако даже при большой разнородности, в данной группе не встретилось мазков, близких к группе контроля по данному показателю.

В группах детей с хроническим пиелонефритом и с хроническим гломерулонефритом следует отметить тенденцию к пойкилоцитозу,

значение концентрации пойкилоцитов ниже — 6.11 ± 0.45 % и 7.78 ± 1.42 % соответственно, что так же значительно превышает норму. Таким образом, результаты позволяют сказать, что подтверждена тенденция к выраженному пойкилоцитозу при ХБП.

В группе контроля пойкилоцитоз в большей степени представлен эхиноцитами и стоматоцитами (0.03 ± 0.06 % и 0.30 ± 0.08 % соответственно). В меньших концентрациях встречались сфероциты, кодоциты, дегмациты, остальные группы представлены в незначительном количестве. Преобладают обратимо трансформированные формы эритроцитов (рис. 1).

В группе с ХПН наиболее многочисленными группами были эхиноциты, акантоциты, сфероциты и дегмациты. При этом, содержание сфероцитов статистически достоверно выше, чем в контрольной группе, что подтверждает тенденцию к образованию необратимо трансформированных форм эритроцитов при хронической почечной недостаточности на ранней стадии (рис. 2).

В группе с хроническим пиелонефритом основные измененные формы — эхиноциты, стоматоциты и дегмациты. Сфероциты представлены в меньшем количестве, чем в группе ХПН (рис. 3).

В группе с хроническим гломерулонефритом также преобладали эхиноциты, стоматоциты и дегмациты (рис. 4).

Конфокальный микроскоп LSM-710, производство Carl Zeiss

В целом можно отметить, что в группах контроля, больных с хроническим пиелонефритом и хроническим гломерулонефритом чаще, чем в группе детей с ХПН, встречались формы, нарушения строения которых можно связать с изменениями в мембране эритроцита (эхиноциты, стоматоциты, кодоциты). Эхиноциты — с короткими выростами, равномерно распределенными по мембране. Стоматоциты — вогнутая часть мембраны имеет вытянутую форму. Кодоциты — мишеневидные; имеют скопление гемоглобина в центре клетки. Это обратимые формы эритроцитов, которые могут быть возвращены в нормальное состояние.

При хронизации заболеваний почек наблюдается тенденция к необратимым трансформациям (переход обратимо дисморфных эритроцитов в сфероциты) [10]. Эритроциты, форма которых обусловлена более серьезными нарушениями — строения цитоскелета — (сфероциты, дегмациты, шизоциты), достоверно чаще встречались в группе с ХПН. Сфероциты — шаровидной формы; склонны к гемолизу, неустойчивы; выделяют также микросфероциты (диаметр 4–6 мкм). Сфероциты представляют результат длительных нарушений обмена и функций клеток красной крови, так как в этом случае речь идет о полной перестройке цитоскелета и мембраны. Дегмациты — “надкусанные” клетки, образуются

Фотографии мазков крови
Конфокальная микроскопия, автофлуоресценция, $\times 36$

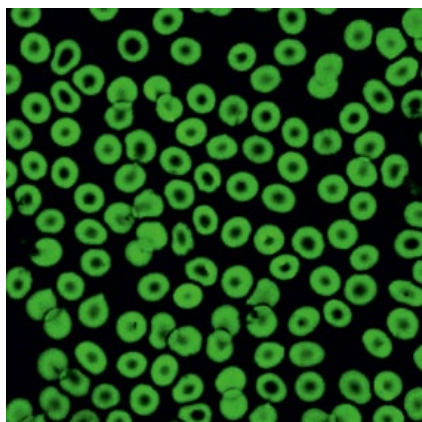


Рисунок 1. Контрольная группа.

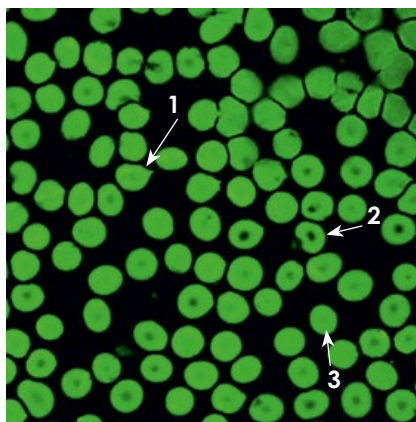


Рисунок 2. Группа ХПН. 1 — Дакриоциты; 2 — Дегмациты; 3 — Сфероциты.

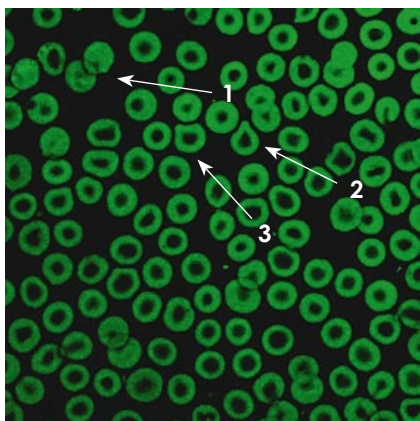


Рисунок 3. Группа хронического пиелонефрита. 1 — Сфероциты; 2 — Дакриоциты; 3 — Дегмациты.

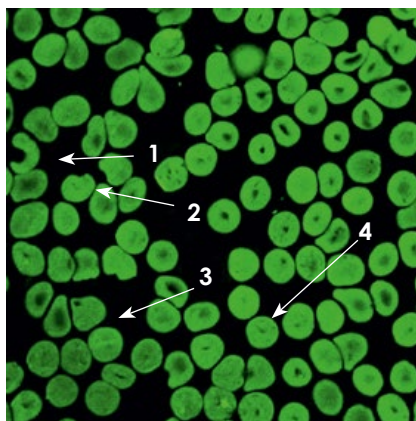


Рисунок 4. Группа хронического гломерулонефрита. 1 — Окантоциты; 2 — Дегмациты; 3 — Дакриоциты; 4 — Сфероциты.

при удалении телец Гейнца клетками ретикулоэндотелиальной системы с частью мембраны и гемоглобина. Шизоциты — клетки треугольной или неправильной “оскольчатой” формы, мелкие фрагменты эритроцитов, либо дегенеративно измененные клетки неправильной формы диаметром 2,0–3,0 мкм.

Диморфизм красных клеток крови указывает, по-видимому, на глубокие морфофункциональные повреждения и дестабилизацию их мембран, непосредственно влияющие на их функциональную активность. Эти изменения требуют дальнейшего изучения.

Выводы

1. В группе детей с хроническим гломерулонефритом и с ХПН, при сравнении со здоровыми детьми

имеются более низкие значения HGB, MCV, MCH, в группе детей с хроническим пиелонефритом — более низкие показатели MCV, RDW, MCH.

2. У детей с ХБП микроциты преобладали над макроцитами, что возможно и обуславливает тенденцию развития анемии при ХБП.
3. Во всех группах детей с ХБП обнаружен пойкилоцитоз, наиболее тяжелая степень которого характерна для детей с ХПН с повышенным содержанием необратимо трансформированных эритроцитов.

Результаты исследования не только подтвердили диагностическую значимость морфофункциональных характеристик эритроцитов при ХБП,

но и отразили актуальность исследований специфики изменений клеток эритронов при данной патологии. Полученные сведения о морфофункциональных особенностях эритроцитов при ХБП у детей дают дополнительную ценную информацию о структурных изменениях клеток в условиях эндогенной интоксикации. Выявленные особенности могут служить дополнительным критерием для диагностики хронической почечной недостаточности на начальной стадии.

Список литературы

1. Земченков А.Ю., Томилина Н.А. «K/DOQI» обращается к истокам хронической почечной недостаточности // Нефрология и диализ. 2004. № 6 (3). С. 204–220.
2. Coresh, J., Byrd-Holt, D., Astor, B.C. et al, Chronic kidney disease awareness, prevalence, and trends among US adults, 1999 to 2000. J Am Soc Nephrol. 2005;16:180–188.
3. Nissenson, A.R., Collins, A.J., Hurley, J. et al, Opportunities for improving the care of patients with chronic renal insufficiency: Current practice patterns. J Am Soc Nephrol. 2001;12:1713–1720.
4. Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Колосова М.В. и др. Типовая реакция периферического звена эритронов при патологических процессах. // Бюллетень сибирской медицины. 2002. № 1. С. 29–35.
5. Смирнов АВ, Шилов ЕМ, Добронравов ВА. и др. Национальные рекомендации «Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению» Нефрология 2012 (1):89–115.
6. Locatelli F., Pozzoni P., Del Vecchio L. Epidemiology of chronic kidney disease in Italy: possible therapeutic approaches // J. Nephrol. 2003. N 16. P. 1–10.
7. Игнатова М.С. Лебедева М.В., Длин В.В., Турпитко О.Ю. Хронические болезни почек в детском возрасте // Нефрология и диализ. 2009. № 4 (11). С. 204–220.
8. Смирнов А.В. Хроническая болезнь почек или хроническое заболевание почек? // Нефрология. 2004. Т. 8, № 1. С. 101–102.
9. Самойлов М.В., Наумов А.Г. Морфофункциональная характеристика эритроцитов как критерий тяжести эндогенной интоксикации // Российский медицинский журнал. — 2000. — № 1. — с. 31–33.
10. Ветчинникова О.Н., Василенко И.А., Юн-винова Л.И. и др. Состояние системы эритронов у больных с хронической почечной недостаточностью // Нефрология и диализ. — 2005. — Т. 7, № 4. — с. 448–453.
11. Деметьева Ю.Н., Костишко Б.Б., Кусельман А.И., Нагорнов Ю.С., Светухин В.В. Морфология эритроцитов при гипоксических состояниях у новорожденных // Материалы Поволжской региональной научно-практической конференции педиатров Ульяновска. — Ульяновск: УлГУ, 2011. Вып. 8. С. 52–55.

Для цитирования. Сабирова А.В., Волосников Д.К., Матяш О.В. Структурно-функциональное состояние эритроцитов у детей с хронической болезнью почек // Медицинский алфавит. Серия «Дерматология». — 2019. — Т. 1. — 7 (382). — С. 105–108.