



# КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК: 618:14-005.1:612.661:612.11:612.62.3

## СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СТАТУС ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ МАТОЧНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЯХ ПУБЕРТАТНОГО ПЕРИОДА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГОРМОНАЛЬНОГО ФОНА

Л. С. Сотникова

*Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск,  
НИИ Фармакологии ТНЦ СО РАМН, г. Томск*

Маточные кровотечения пубертатного периода (МК ПП) остаются актуальной проблемой в детской гинекологии. У пациенток с МК ПП в анамнезе в 85 % случаев сохраняются нарушения менструального цикла в последующие годы их жизни, 82 % страдают первичным бесплодием, 8 % – невынашиванием, повышается риск развития гиперпластических процессов эндометрия и рака молочной железы [1, 2, 5]. Затяжное и рецидивирующее течение заболевания приводит к развитию основного осложнения МК ПП – хронической постгеморрагической железодефицитной анемии, еще больше усугубляющей дезадаптацию подростка и снижение его трудоспособности [8, 9, 10]. До настоящего времени не существует единого мнения в оценке роли различных патогенетических механизмов в развитии анемии при маточных кровотечениях [1, 11]. В связи с этим большой интерес вызывает проведение комплексной и сравнительной оценки морфологического и функционального статуса зрелых циркулирующих эритроцитов у пациенток с МК ПП без развития анемии для получения новых данных фундаментального характера.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить структурно-метаболический статус эритроцитов периферической крови у пациенток с МК ПП в зависимости от состояния гормонального фона.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явились 200 девушек-подростков. Основную группу составили 150 пациенток с МК ПП, находившихся на лечении в гине-

кологической клинике СибГМУ и Городском центре планирования семьи (г. Томск) в период с 1995 по 2006 г. Контрольную группу составили 50 практически здоровых девушек, сопоставимых с основной группой по возрасту, без нарушения менструального цикла. Критериями отбора в основную группу были: наличие на момент обследования маточного кровотечения; возраст от 13 до 18 лет; отсутствие анемии (гемоглобин  $\geq 120$  г/л); отсутствие железодефицитной анемии в анамнезе; отсутствие заболеваний системы гемостаза; инфекционный индекс не более 2–2,5; наличие в анамнезе 3 и более эпизодов маточного кровотечения; в момент исследования пациентки не принимали половые стероиды.

Определяли базальный уровень циркулирующих фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и эстрадиола (Е2): в контрольной группе – в раннюю фолликулиновую фазу, при МК ПП – на 8-й день кровотечения с использованием стандартных наборов фирмы "Hoffman La Rosh" (Франция). Полученные данные показателей ФСГ и Е2 позволили разделить пациенток с МК ПП на три группы: I группа ( $n = 48$ ): МК ПП на фоне гипозэстрогенемии (ФСГ  $< 2,5$  мМЕ/л, Е2  $< 230$  пмоль/л); II группа ( $n = 44$ ): МК ПП на фоне нормозэстрогенемии (ФСГ – 2,5–3,5 мМЕ/л, Е2 – 230–330 пмоль/л); III группа ( $n = 58$ ): МК ПП на фоне гиперэстрогенемии (ФСГ  $> 3,5$  мМЕ/л, Е2  $> 330$  пмоль/л). Базальные уровни ФСГ и Е2 в контрольной группе (ФСГ – 2,5–3,5 мМЕ/л, Е2 – 230–330 пмоль/л) соответствовали средним нормальным значениям здоровых девочек пубертатного периода [5].

Комплексная оценка состояния периферического звена эритрона у девушек с МК ПП проводилась в период кровотечения. Изучались показатели периферической крови: количество эритроцитов и ретикулоцитов, уровень гемоглобина, цветовой показатель и гематокрит с помощью стандартных гематологических методов (Меньшиков В. В., 1987). Средний объем эритроцита (MCV), ширину распределения эритроцитов по объему – степень анизозитоза (RDW), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), среднюю корпускулярную концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC) определяли на гематологическом автоматическом анализаторе "Abacus" ("Diatron", Австрия). Определяли величины сухой массы эритроцитов производили методом интерферометрии (Гольдберг Е. Д. и др., 1983) с помощью поляризационно-интерференционного микроскопа "Biolar PI" ("PZO", Польша). По полученным результатам строили гистограммы, характеризующие структуру популяции эритроцитов по степени насыщения клеток гемоглобином. Концентрацию железа в сыворотке крови и общую железосвязывающую способность сыворотки исследовали стандартным диагностическим набором фирмы "Тесо" (США). Трансферрин и сывороточный ферритин определяли биохимическим методом с помощью наборов фирмы "Orgentec diagnostica" (Германия).

Количественную оценку сульфгидрильных групп и липопротеинового комплекса в эритроцитах периферической крови производили методом цитофотометрии. Для выявления SH-групп мазки крови окрашивали по методу Chevremont, Frederick (1943). Липопротеиновый комплекс в эритроцитах периферической крови выявляли по методу Varenbaum (1956) с применением жженого судана черного В. Концентрацию изучаемых субстратов рассчитывали на единицу клеточной поверхности в условных единицах оптической плотности, по эритрограммам определяли средние значения показателей в каждой группе обследованных (Гомзякова Н. В. и др., 1967; Козинца Г. И. и др., 1986).

Поверхностную архитектуру эритроцитов периферической крови оценивали методом электронной сканирующей микроскопии. Образцы крови готовили по методике Г. И. Козинца и др. (1982). Полученные образцы изучали в электронном микроскопе РЭМ-200. На каждом образце у 50 произвольно выбранных эритроцитов измеряли диаметр и размер центральной впадины. Соотношение различных морфологических типов эритроцитов изучали из 1000 клеток у каждой пациентки. Вычисляли процентное соотношение каждого типа клеток согласно классификации Г. И. Козинца и др. (1984).

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакета программ "Statistica 5,0" для "Windows" [7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ показателей периферического звена эритрона (количество эритроцитов и ретикулоцитов, уровень гемоглобина, цветовой показатель, гематокрит) у пациенток с МК ПП не выявил статистически значимых отклонений от нормы, хотя средние их значения оказались несколько ниже соответствующих значений в контрольной группе. Это проявилось в снижении средних значений уровней гемоглобина и абсолютного количества эритроцитов у пациенток с МК ПП, особенно эта тенденция достоверно выявлена при гиперэстрогемии. Гематокрит у пациенток всех групп МК ПП оставался в пределах нормальных границ. Уменьшение концентрации гемоглобина и абсолютного количества эритроцитов происходило параллельно, поэтому величина цветового показателя у пациенток с МК ПП не отличалась от таковой в контрольной группе. Не удалось зарегистрировать изменения количества ретикулоцитов при МК ПП. В I и II группах пациенток с МК ПП (гипо- и нормоэстрогемия) средний объем эритроцитов имел лишь тенденцию к уменьшению, появились аномальные популяции клеток – микроциты. У пациенток III группы (гиперэстрогемия) выявлено достоверное ( $p < 0,05$ ) уменьшение MCV, на гистограммах частоты встречаемости эритроцитов разного объема обнаружено достоверное увеличение ( $p = 0,0022$ ) RDW. MCH имело тенденцию к уменьшению во всех группах с МК ПП, особенно у пациенток с гиперэстрогемией. Во всех группах с МК ПП зарегистрирована тенденция к снижению уровня MCHC. При анализе показателей обмена железа выявлено, что у пациенток с МК ПП имеет место снижение уровня сывороточного железа и повышение общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС). Наибольшая разница значений по сравнению с контрольной группой получена у пациенток с маточными кровотечениями на фоне гиперэстрогемии. Также в этой группе отмечена самая низкая концентрация ферритина в крови –  $(10,6 \pm 1,5)$  мкг/л, что говорит о формировании латентного дефицита железа у данного контингента больных.

Данные интерферометрического исследования эритроцитов периферической крови больных МК ПП свидетельствовали об отсутствии статистически значимых различий между содержанием плотного вещества в эритроцитах у подростков без маточных кровотечений и уровнем сухой массы при маточных кровотечениях. Однако зарегистрированы изменения в процентном распределении эритроцитов по количеству плотных веществ. Признаки перестройки популяции зафиксированы в I группе пациенток с МК ПП (гипоэстрогемия): уменьшилось количество элементов с сухой массой 30–39 пг до 59,6 %, и одновременно возрос пул клеток с пониженной и низкой (10–29 пг) сухой массой до 21,9 %; во II группе (нормоэстрогемия) степень разнородно-

сти эритроцитарного состава по данному показателю составила 59,8 и 20,9 %; в III группе (гиперэстрогенемия) – 40,3 и 45,4 %; в контроле – 62,8 и 16,6 % соответственно. Одновременно с этим у всех пациенток с МК ПП выявлено снижение количества эритроцитов с сухой массой 40–49 пг.

Представляет интерес и такая характеристика морфо-функционального состояния эритрона, как концентрация в эритроцитах сульфгидрильных групп и липопротеинов. Более детальный анализ распределения клеток красной крови по концентрации сульфгидрильных групп при МК ПП позволил выявить уменьшение эритроцитов с высоким, повышенным и нормальным уровнем субстрата. Например, если у лиц контрольной группы пул клеток со средней концентрацией сульфгидрильных групп (0,30–0,39 усл. ед.) представлен в 68,2 %, то у пациенток с гипоэстрогенемией – в 51,6 %, с нормоэстрогенемией – в 52,8 %, а с гиперэстрогенемией – в 36,2 %. Суммарное содержание эритроцитов с пониженным и низким уровнем SH-групп (0,15–0,29 усл. ед.) при МК ПП на фоне гипоэстрогенемии составило 42,5 %, нормоэстрогенемии – 40,6 %, гиперэстрогенемии – 58,4 %, что в 1,5–2 раза превышает соответствующие показатели контрольной группы (в контроле – 28,4 %). При МК ПП происходит отчетливое снижение содержания липопротеинов в эритроцитах периферической крови. У пациенток с гипо- и нормоэстрогенемией выявлялось уменьшение среднего уровня липопротеинов за счет снижения клеток с концентрацией липопротеинового комплекса в интервалах от 0,70 до 0,99 усл. ед. на 14 % по сравнению с аналогичными показателями у лиц контрольной группы, а также достоверного увеличения эритроцитов с пониженным и низким содержанием определяемого вещества (на 20 %). Выраженная разнородность эритроцитарной популяции по содержанию липопротеинов была также зарегистрирована у пациенток с гиперэстрогенемией, когда среди циркулирующих эритроцитов определялись клетки как с низкой (0,40–0,49 усл. ед.), так и с предельно низкой (менее 0,40 усл. ед.) концентрацией липопротеинового комплекса. При этом, по результатам цитоспектрофотометрического исследования, не только возросло количество эритроцитов с пониженным уровнем изучаемого субстрата в пределах 0,40–0,49 усл. ед. (6,34 %), но и снизилась доля клеток с содержанием липопротеинов в диапазонах 0,80–0,89 усл. ед. (14,22 %) и 0,90–0,99 усл. ед. (2,14 %).

Факт снижения уровня сульфгидрильных групп в эритроцитах периферической крови является достоверным признаком возрастания активности процесса липоперекисеобразования и функциональной неполноценности антиоксидантной системы при МК ПП, что обязательно приводит к сокращению периода циркуляции эритроцитов в кровеносном русле. Повышение активности свободно-радикального окисления яв-

ляется возможной причиной ослабления белок-липидных взаимодействий, что и приводит к уменьшению содержания липопротеинов в эритроцитах при маточных кровотечениях. Нарушение липидного спектра цитолеммы имеет серьезные последствия для сохранения оптимального морфофункционального статуса эритроцитов и способно индуцировать раннюю необратимую трансформацию клеточных элементов, их преждевременное старение и ускоренную гибель [3].

Данное утверждение подтверждается результатами проведенного электронно-микроскопического исследования, выявившего отчетливую тенденцию к морфологической перестройке эритроцитарной популяции при МК ПП. Установлено, что поверхностная архитектура мембран эритроцитов претерпела изменения, приведшие к изменению количественного распределения клеточных форм. Наиболее выраженная дезорганизация мембран была обнаружена в группе пациенток с гиперэстрогенемией. Если в группах с гипо- и нормоэстрогенемией выявилась только тенденция к снижению числа нормальных двояковогнутых дискоцитов, то в группе с гиперэстрогенемией количество дискоцитов уменьшено на 7 % от контрольных цифр. Наряду с этим, в периферической крови девушек с МК ПП отмечалось достоверное повышение количества измененных форм эритроцитов, среди которых увеличение переходных форм произошло в группах с гипо- и нормоэстрогенемией на 0,5 %, а в группе с гиперэстрогенемией – уже на 4,6 %. Повышение уровня переходных форм было обусловлено кратным увеличением содержания эллипсов, плоских дисков, дискоцитов с гребнем, с множественными выростами, а также эритроцитов в виде тутовой ягоды. Статистически значимое возрастание числа сфероцитов, стоматоцитов и эритроцитов в виде спущенного мяча привело к увеличению популяции предгемолитических элементов в 3 раза в группе пациенток с гиперэстрогенемией. Число дегенеративных форм эритроцитов по сравнению с контрольными значениями возросло в группах с гипо- и нормоэстрогенемией в 2–2,5 раза, а в группе пациенток с гиперэстрогенемией – в 15 раз.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при маточных кровотечениях пубертатного периода происходят выраженные изменения метаболического и морфологического статуса зрелых эритроцитов, что проявляется снижением количества сульфгидрильных групп и липопротеинов в цитомембранах, уменьшением средней величины сухой массы эритроцитов и возрастанием количества функционально неполноценных трансформированных форм эритроцитов, находящихся на различных стадиях дегенерации. Наиболее существенное нарушение структурно-метаболического статуса эритроцитов наблюдается при маточных кровотечениях на фоне гиперэстрогенемии. Факт качественной неполноценности зрелых циркулирующих эритроцитов и фор-

мирование латентного дефицита железа предшествует и может обуславливать развитие основного осложнения маточных кровотечений пубертатного периода – хронической постгеморрагической железодефицитной анемии.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Богданова Е. А.* Гинекология детей и подростков. – М.: Медицинское информационное агенство, 2000. – 332 с.

2. *Гарден А. С.* Детская и подростковая гинекология / Под ред. А. С. Гарден, Т. М. Глыбинной; пер. с англ. – М.: Медицина, 2001. – С. 149–155.

3. *Геннис Р.* Биомембраны: Молекулярная структура и функции: пер. с англ. – М.: Мир, 1997. – 624 с.

4. *Гольдберг Е. Д., Степанова Е. И., Костарева И. В.* Интерференционная микроскопия в гематологии. – Томск: Изд-во ТГУ, 1983. – 100 с.

5. *Гуркин Ю. А.* Гинекология подростков. – СПб.: Фолиант, 2002. – С. 193–226.

6. *Козинец Г. И., Симоварт Ю. А.* Поверхностная архитектура периферической крови в норме и при некоторых заболеваниях системы крови. – Таллин: Валгус, 1984. – 116 с.

7. *Пеккер Я. С., Фокин В. А.* Анализ и обработка медико-биологической информации. – Томск: Изд-во ТПУ, 2002. – 160 с.

8. *Серов В. Н., Прилепская В. Н., Жаров Е. В.* и др. Железодефицитные состояния в различные периоды жизни женщины. – М., 2002. – 15 с.

9. *Уварова Е. В., Веселова Н. М.* // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2005. – № 3. – С. 30–37.

10. *Chen B. H., Giudice L. C.* // West. J. Med. – 2004. – Vol. 169. – P. 280–284.

11. *Ponca P.* // Kidney Int. Suppl. – 1999. – Vol. 69. – P. 2–11.