DOI: 10.26693/jmbs07.01.086
УДК 616.24-002.11
Березняков В. І.

ЕРИТРОЦИТИ ТА ЇХ ЗНАЧЕННЯ В ПАТОГЕНЕЗІ НЕГОСПІТАЛЬНОЇ ПНЕВМОНІЇ

Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

Мета роботи було дослідження реакції еритроцитів у хворих, що страждають на негоспітальну пневмонію, та оцінка її значення в патогенезі даного захворювання.

Матеріал та методи. Обстежено 30 хворих, що страждали на негоспітальну пневмонію. Діагноз встановлювали на підставі епідеміологічних, клінічних, лабораторних, рентгенологічних даних. Визначали кількість еритроцитів, концентрацію гемоглобіну, гематокритне число, еритроцитарні індекси: середній об'єм еритроцитів, середній вміст гемоглобіну в еритроциті, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті.

Результати. Встановлено, що при негоспітальній пневмонії в організмі спостерігається посилення утворення активних форм кисню у всі терміни спостереження. Дослідження якісного і кількісного складу клітин крові в даному дослідженні встановило суттєві зсуви усіх показників. Так, кількість еритроцитів на 1-шу добу спостереження збільшувалася на 20,9 % відносно групи практично здорових осіб, а потім знижувалася та залишалася на 8 %–10 % менше, ніж в контролі на 5-у добу. В подальшому, через 10 діб спостерігалося різке (в 2,2 раза) зменшення кількості еритроцитів. Однак, в цілому, кількість еритроцитів в цей термін спостереження залишалася вірогідно зниженою відносно групи практично здорових осіб на 20 %. Аналогічна динаміка була у концентрації гемоглобіну. Максимальне зниження кількості еритроцитів і концентрації гемоглобіну в крові за часом вказує на активний гемоліз еритроцитів в цій період.

Висновки. Зміни показників кількості еритроцитів, концентрації гемоглобіну і еритроцитарних індексів при негоспітальній пневмонії обумовлені мембранодеструктивними процесами в еритроцитах, зменшенням їх абсолютного числа внаслідок гемолізу, змінами гематокриту за рахунок перерозподілу крові та гіпоксією, що розвивається при негоспітальній пневмонії. Зміни в еритроцитах є киснево-залежними механізмами в патогенезі негоспітальної пневмонії.

Ключові слова: негоспітальна пневмонія, еритроцити, гемоглобін, гематокритне число, еритроцитарні індекси.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Стаття є фрагментом НДР «Мукоактивні та рослинні лікарські засоби для лікування кашлю при гострих інфекційно-запальних захворюваннях нижніх дихальних шляхів» № державної реєстрації 0117U000595.

Вступ. В даний час пневмонії займають 4-5-е місце в світі в структурі причин смерті після серцево-судинних і онкологічних захворювань, цереброваскулярної патології, травм і отруєнь, а серед інфекційних хвороб займають 1-е місце [1, 2]. При цьому летальність у госпіталізованих пацієнтів з тяжкою формою захворювання коливається від 14 до 40 % і зростає серед хворих старше 60 років [1, 3].

Однією із провідних причин ускладненого та затяжного протікання пневмонії є зміни, які відбуваються в еритроцитах.

Найбільш чутливі до дефіциту кисню тканини, менш за все пристосовані до анаеробного засобу отримання енергії. Кров, як рідка сполучна тканина організму, не тільки забезпечує взаємозв'язок всіх органів та систем, являючись індикатором стану організму, але і сама безпосередньо реагує на дефіцит кисню. Формені елементи крові: еритроцити, тромбоцити, гранулоцити, лімфоцити, плазматичні клітини і моноцити є цікавими об'єктами для вивчення при гіпоксії, тому що вони відрізняються один від одного не тільки за функціями, що виконують, але і за характером обмінних процесів, ступеню використання кисню, здатності до генерації АФК та стійкості до них [4, 5, 6]. Еритроцити унікальні тим, що вони постійно контактують з киснем, транспортуючи його до всіх тканин, але не використовують кисень для себе. Еритроцити, володіючи виключно анаеробним метаболізмом, не вміщують основних систем, що використовують кисень: мітохондрій та ендоплазматичної сітки. Утворення енергії в

них відбувається шляхом субстратного фосфорилювання АДФ в реакціях гліколізу, вони не здатні до синтезу білків та не мають ДНК. З іншого боку, еритроцити – це клітини, що постійно вміщують кисень в складі гемоглобіну та максимально стійкі до пошкоджуючої дії його активних форм. Постійна взаємодія з киснем викликає аутоокиснення гемоглобіну еритроцитів з утворенням супероксид-радикалів, а також інших АФК, головним чином, перекису водню і гідроксид-радикалів [7, 8]. Для захисту від них в еритроцитах існує потужна система антипероксидного та антирадикального захисту: супероксиддисмутаза, каталаза, глутатінонпероксидаза, глутатіонредуктаза та інші.

Метою даної **роботи** було дослідження реакції еритроцитів у хворих, що страждають на негоспітальну пневмонію, та оцінка її значення в патогенезі даного захворювання.

Матеріал та методи дослідження. Обстежено 30 хворих, що страждали на негоспітальну пневмонію (НП), (20 чоловіків і 10 жінок) віком від 20 до 80 років, які перебували в терапевтичному відділенні Міської клінічної лікарні № 25 м. Харкова. Діагноз НП встановлювали на підставі епідеміологічних, клінічних, лабораторних, рентгенологічних даних. Виключали із обстеження хворих із такими патологіями, як туберкульоз, бронхіальна астма, гепатит В, С і D, ВІЛ, захворювання крові та онкологічні захворювання.

Контрольна група була сформована з 20 практично здорових осіб (ПЗО), що порівняні з хворими за віком і статтю.

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Всі учасники були інформовані щодо цілей, організації, методів дослідження та підписали інформовану згоду щодо участі у ньому, і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Верифікацію збудників НП проводили за загальноприйнятими мікроскопічними і бактеріологічними методами. При госпіталізації всім обстеженим, відповідно до стандартів міжнародного товариства пульмонологів та Рекомендаціям Національного інституту фтизіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського (Київ, 2019), призначалася стандартна антибактеріальна терапія.

Забір крові проводили із вени хворих (10 мл) через 10-12 годин після останнього прийому їжі. У якості антикоагулянту використовували K_2ЕДТА (7,2 мг). Робочу суспензію еритроцитів отримували за допомогою трьох-кратної відмивки розчином низької іонної сили Liss (виробник ТОВ «Гематолог») з режимом центрифугування при 2700 g протягом 8 хвилин. Готову суспензію еритроцитів розводили 0,9 % розчином хлориду натрію в співвідношенні 1:200. В крові визначали параметри гемограми на автоматичному гематологічному аналізаторі MINDRAV BC-3000. Вивчення параметрів гемограми вміщувало визначення кількості еритроцитів (КЕ), концентрації гемоглобіну (Hb), гематокритного числа (Ht), що виражає вміст еритроцитів в загальному об'ємі крові (норма залежить від віку, статі). Вивчали наступні еритроцитарні індекси: середній об'єм еритроцитів ($ОЕ_{сер}$), середній вміст гемоглобіну в еритроциті ($HbE_{сер.}$), середня концентрація гемоглобіну в еритроциті ($KHbE_{сер.}$) [9]. Середній вміст гемоглобіну в кожному еритроциті розраховували за колірним показником, який розраховували шляхом ділення кількості гемоглобіну в одиницях Салі на подвоєнні перших цифр кількості еритроцитів. Морфометрію еритроцитів периферичної крові досліджували за допомогою сітки Автандилова [10].

Статистичну обробку одержаних даних здійснювали за допомогою пакета програм Statistica for Windows 8.0 з використанням t-критерію Стьюдента та кореляційного аналізу. Результати вважали дійсними при $p<0,05$ [11].

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що при НП в організмі спостерігається посилення утворення АФК у всі терміни спостереження (**табл. 1**).

Таблиця 1 – Динаміка змін гемоглобіну, кількості еритроцитів та гематокриту у хворих, що страждають на негоспітальну пневмонію (n=30)

Термін спостереження	Показник		
	КЕ, 10^{12}/л	Hb, г/л	Ht, л/л
ПЗО	6,75±0,12	116,0±3,6	36,5±1,8
1 доба	8,23±0,25*	125,0±2,9*	46,0±1,2*
5 доба	6,4±0,12*	99,0±3,8*	35,0±2,2
10 доба	4,8±0,44*	82,0±4,1*	28,0±1,1*

Примітка: * - $p<0,05$ порівняно із показниками групи практично здорових осіб

Вважаємо, що джерелом генерації АФК при цьому є формені елементи крові, а субстратом окиснення – мембранні клітини крові, а також плазмові ліпопротеїди. Дослідження якісного і кількісного складу клітин крові показало суттєві зсуви усіх показників. Так, кількість еритроцитів на 1-шу добу спостереження збільшувалася на 20,9 % відносно групи ПЗО, а потім знижувалася та залишалася на 8 %–10 % менше, ніж в контролі на 5-у добу.

В подальшому, через 10 діб мало місце різке (в 2,2 рази) зменшення кількості еритроцитів. Однак, в цілому, концентрація КЕ в цій термін спостереження залишалася достовірно зниженою відносно групи ПЗО на 20 %. Аналогічну динаміку мали зміни концентрації гемоглобіну (**табл. 1**).

Рівень Hb через добу після початку обстеження збільшувався на 8 %, а потім знижувався на 10 %–15 % в наступні 5 діб, а на 10-у добу дослідження зменшення кількості еритроцитів досягало 30 % відносно групи ПЗО.

Максимальне зниження КЕ і Hb в крові за часом вказує на активний гемоліз еритроцитів в цій період. Отримані в даному дослідженні результати узгоджуються з даними літератури в тому, що при різноманітних впливах на еритроцити, зокрема, перекису водню, спостерігається окиснення і денатурація гемоглобіну (утворення так званих тілець Гейнца), яка супроводжується вивільненням гема/геміну – ферріпротопорфіна IX [6]. При цьому, екзогенний гемін здатен легко вбудовуватися в мембрану, дестабілізуючи її та викликаючи гемоліз [5, 8]. Можливо, зміни КЕ і Hb обумовлені також і коливаннями гематокритного числа, що вказує на перерозподіл крові та порушення гемодинаміки при гіпоксії. Показник гематокриту в обстежуваних пацієнтів різко збільшувався на 1-у добу дослідження (на 26 % відносно ПЗО), що свідчило про згущення крові. Однак, на 5-у добу Ht різко знижувався, складаючи лише 57 % від рівня групи ПЗО і, практично, не відновлювався до висхідного рівня на 10-у добу, залишаючись на рівні 24 % в порівнянні з групою ПЗО. Середній об'єм еритроцита протягом дослідження достовірно не змінювався. Разом з тим, на 5-у добу і через 10 діб $ОЕ_{сер.}$ був незначно знижений. $HbE_{сер}$. змінювався протягом спостереження за хворими хвилеподібно (**табл. 2**): через добу цей показник знижувався (на 12 % відносно групи ПЗО) та був подібним на 10 добу дослідження (на 10 %). Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах мала аналогічну динаміку, при цьому зміни цього показника були достовірними відносно групи ПЗО у всі терміни спостереження. Найменше значення $КHbE_{сер.}$ відмічено через добу, найбільше – на 10-у добу.

Таблиця 2 – Динаміка змін еритроцитарних індексів у хворих, що страждають на негоспітальну пневмонію (n=30)

Термін спостереження	Показники		
	$ОЕ_{сер.}$, г/дл	$HbE_{сер.}$, г/дл	$КHbE_{сер.}$, г/дл
ПЗО	54,1±1,2	17,2±0,1	317,0±2,7
1 доба	55,9±1,6	15,2±0,3*	271,0±6,8*
5 доба	55,9±1,2	15,0±0,4*	268,0±7,9*
10 доба	58,0±1,3*	17,0±0,1*	292,0±6,3*

Примітка: * - p<0,05 порівняно із показниками групи практично здорових осіб

Результати вивчення еритроцитарних індексів показали (**табл. 2**), що при НП та гіпоксії, яка розвивається за даних умов середній об'єм еритроцита достовірно не змінюється, тоді як середній вміст гемоглобіну в еритроциті – $HbE_{сер}$ – і середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах – $КHbE_{сер}$ – зменшуються через добу, а потім зростають (на 5-у та 10-у добу). При цьому на 10-у добу $HbE_{сер}$ сягає рівня ПЗО, а $КHbE_{сер}$ залишається зниженим.

Можливо, незначні зміни об'єму еритроцитів в сторону зменшення їх розмірів, що спостерігалося у хворих, що страждають на НП, на 1-у добу обумовлено частковою дегідратацією та стисненням клітин за рахунок відкриття кальцій-залежних калієвих каналів (Гардос-ефект), яке відбувається під дією окиснювачів – продуктів пероксидації.

Припущення ґрунтується на даних літератури, в яких відображено, що дія на еритроцити окиснювачів (феназин метосульфат, третбутіловий гідроперекис) призводить до активації кальцій-залежних калієвих каналів. Автори вважають, що активація Гардокс-каналів являється загальною властивістю клітинної відповіді при окиснювальних впливах [8]. При зменшені об'єму еритроцитів відбувається збільшення $HbE_{сер}$ і $КHbE_{сер}$, тоді як концентрація гемоглобіну в крові знижується. В подальшому зменшення об'єму клітин змінюється його збільшенням, що обумовлено плазмолізом внаслідок глибоких мембранодеструктивних змін. На гемоліз еритроцитів вказує різке зменшення їх кількості та концентрації гемоглобіну, починаючи з 5-ї доби дослідження.

Таким чином вважаємо, що подібна динаміка еритроцитарних індексів обумовлена мембранодеструктивними процесами в еритроцитах, змінами їх абсолютного числа внаслідок гемолізу, а також змінами гематокриту за рахунок перерозподілу крові та гіпоксії в легенях, що розвивається при НП.

У проведеному дослідженні виявлено, що за наявності НП функціональна неспроможність системи кисневого забезпечення організму на рівні зовнішнього дихання доповнюється еритропоезним стресом, що зменшує резервні можливості червоної крові. Очевидно порушення кисневого балансу в тканинах сприяє підвищенню здатності Hb зв'язувати кисень за відносно малого його вмісту в крові [12]. Опосередкований кисневим голодуванням стрес-еритропоез супроводжується надходженням в циркуляцію функціонально неповноцінних еритроцитів. Вони піддаються прискореній елімінації з судинного русла, що і викликає зниження кількісних показників червоної крові (вміст еритроцитів, концентрація Hb) зі збереженням

корпускулярних параметрів [13]. Це свідчить про підвищення адаптаційного потенціалу киснево-транспортної системи крові і дозволяє свідчити про резервні можливості, що визначають відповідність постачання тканин киснем їх функціональним потребам [12, 13, 14].

Висновки

1. Зміни показників кількості еритроцитів, концентрації гемоглобіну і еритроцитарних індексів при негоспітальній пневмонії обумовлені мембранодеструктивними процесами в еритроцитах, зменшенням їх абсолютного числа внаслідок гемолізу, змінами гематокриту за рахунок перерозподілу крові та гіпоксією, що розвивається при негоспітальній пневмонії.
2. Зміни в еритроцитах є киснево-залежними механізмами в патогенезі негоспітальної пневмонії.
3. Одержані результати свідчать про те, що при негоспітальній пневмонії необхідним є включення антигіпоксантів до медикаментозної терапії хворих.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується вивчення участі механізмів адаптації організму до нестачі кисню за оцінкою вмісту фетгемоглобіну в периферійній крові хворих на негоспітальну пневмонію.

References

1. Eshwara VK, Mukhopadhyay C, Rello J. Community-acquired bacterial pneumonia in adults: An update. *Indian J Med Res*. 2020;151(4):287-302. PMID: 32461392. PMCID: PMC7371062. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1678_19
2. Lanks CW, Musani AI, Hsia DW. Community-acquired Pneumonia and Hospital-acquired Pneumonia. *Med Clin North Am*. 2019;103(3):487-501. PMID: 30955516. doi: 10.1016/j.mcna.2018.12.008
3. Huang Y, Liu A, Liang L, Jiang J, Luo H, Deng W, et al. Diagnostic value of blood parameters for community-acquired pneumonia. *Int Immunopharmacol.* 2018;64:10-15. PMID: 30144639. doi: 10.1016/j.intimp.2018.08.022
4. Cavezzi A, Troiani E, Corrao S. COVID-19: hemoglobin, iron, and hypoxia beyond inflammation. A narrative review. *Clin Pract.* 2020 May 28;10(2):1271. PMID: 32509258. PMCID: PMC7267810. doi: 10.4081/cp.2020.1271
5. D'Alessandro A, Xia Y. Erythrocyte adaptive metabolic reprogramming under physiological and pathological hypoxia. *Curr Opin Hematol*. 2020 May;27(3):155-162. PMID: 32141895. doi: 10.1097/MOH.0000000000000574
6. Li Y, Huang X, Wang J, Huang R, Wan D. Regulation of Iron Homeostasis and Related Diseases. *Mediators Inflamm*. 2020 May 2;2020:6062094. PMID: 32454791. PMCID: PMC7212278. doi: 10.1155/2020/6062094
7. Bardyn M, Crettaz D, Borlet M, Längst E, Martin A, Abonnenc M, et al. Hypoxia and hypocapnia storage of γ-irradiated red cell concentrates. *Blood Transfus.* 2021 Jul;19(4):300-308. doi: 10.2450/2020.0075-20
8. Renassia C, Peyssonnaux C. New insights into the links between hypoxia and iron homeostasis. *Curr Opin Hematol*. 2019 May;26(3):125-130. PMID: 30855332. PMCID: PMC6467554. doi: 10.1097/MOH.0000000000000494
9. Kamyshnikov VS. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika (metody i interpretatsiya laboratornykh issledovaniy)* [Clinical laboratory diagnostics (methods and interpretation of laboratory studies)]. M: MEDpres-inform; 2015. 720 p. [Russian]
10. Avtandilov GG. *Morphometriya v patologii* [Morphometry in pathology]. M; 1973. 248 s. [Russian]
11. Antomonov MYu. *Matematicheskaya obrabotka i analiz biomeditsinskikh dannykh* [Mathematical processing and analysis of biomedical data]. 2nd ed. K; 2017. 578 s. [Russian]
12. Ito A, Ishida T. Diagnostic markers for community-acquired pneumonia. *Ann Transl Med*. 2020 May;8(9):609. PMID: 32566635. PMCID: PMC7290537. doi: 10.21037/atm.2020.02.182
13. Ren Q, Liu H, Wang Y, Dai D, Tian Z, Jiao G, et al. The Role of Red Blood Cell Distribution Width in the Severity and Prognosis of Community-Acquired Pneumonia. *Can Respir J*. 2021 Sep 11;2021:8024024. PMID: 34552672. PMCID: PMC8452423. doi: 10.1155/2021/8024024
14. Viasus D, Del Rio-Pertuz G, Simonetti AF, Garcia-Vidal C, Acosta-Reyes J, Garavito A, et al. Biomarkers for predicting short-term mortality in community-acquired pneumonia: a systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2016;72(3):273-282. PMID: 26777314. doi: 10.1016/j.jinf.2016.01.002

UDC 616.24-002.11

Erythrocytes and Their Importance in the Pathogenesis of Community-Acquired Pneumonia

Bereznyakov V. I.

Abstract. *The purpose of the study* was to study the response of erythrocytes in patients with community-acquired pneumonia and to assess its importance in the pathogenesis of this disease.

Materials and methods. Thirty patients with community-acquired pneumonia were examined. The diagnosis was established on the basis of epidemiological, clinical, laboratory, radiological data. Erythrocyte count, hemoglobin concentration, hematocrit number, erythrocyte indexes were determined: mean erythrocyte volume, mean hemoglobin content in erythrocyte, mean hemoglobin concentration in erythrocyte.

Results and discussion. It is established that with community-acquired pneumonia in the body there is an increase in the formation of reactive oxygen species at all times of observation. The study of the qualitative and quantitative composition of blood cells in our study found significant shifts in all indicators. Thus, the number of erythrocytes on the 1st day of observation increased by 20.9% relative to the group of healthy individuals, and then decreased and remained by 8 % – 10 % less than in the control on the 5th day. Subsequently, after 10 days there was a sharp (2.2 times) decrease in the number of erythrocytes. However, in general, the concentration of erythrocytes in this observation period remained significantly reduced relative to the group of almost healthy individuals by 20%. Changes in hemoglobin concentration had a similar dynamic. The maximum decrease in erythrocytes count and hemoglobin concentration in the blood over time indicates active hemolysis of erythrocytes during this period. Hematocrit in the examined patients increased sharply on the 1st day of the study, which indicated blood clotting. However, on day 5, hematocrit decreased sharply, amounting to only 57% of the level of the practically healthy individuals' group and practically did not recover to the ascending level on the 10th day. The mean erythrocyte volume did not change significantly during the study.

Conclusion. Changes in the number of erythrocytes, hemoglobin and erythrocyte indices in community-acquired pneumonia are due to membrane-destructive processes in erythrocytes, a decrease in their absolute number – due to hemolysis, hematocrit changes – due to redistribution of blood and hypoxia that develops in non-hospital pneumonia. Changes in erythrocytes are oxygen-dependent mechanisms in the pathogenesis of community-acquired pneumonia.

Keywords: community-acquired pneumonia, erythrocytes, hemoglobin, hematocrit number, erythrocyte indexes.

ORCID and contributionship:
Vladyslav I. Bereznyakov : 0000-0001-7818-4864 A, B, C, D, E, F

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis,
C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article,
E – Critical review, F – Final approval of the article

CORRESPONDING AUTHOR
Vladyslav I. Bereznyakov
Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education,
General Practice – Family Medicine Department
195, Moskovsky Ave., Kharkiv 61037, Ukraine
tel: +380686130185, e-mail: vladyslavbereznyakov@gmail.com

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 18.12.2021 р.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування