СОСТОЯНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФЕРРОКИНЕТИКИ И ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У ДЕТЕЙ С ГИПОХРОМНОЙ АНЕМИЕЙ

[С. И. Артюкова, О. В. Антонов](#)

*ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России
(г. Омск)*

Проведено комплексное исследование процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), системы антиперекисной защиты, пуринового и энергетического обмена у 120-ти детей с анемией грудного и раннего возраста г. Омска. Установлено, что гипохромная анемия у детей раннего возраста крупного промышленного центра гетерогенна за счет наличия форм с классическим (при железодефицитной анемии) и атипичным соотношением феррокинетических показателей (при снижении сывороточного железа отсутствие закономерного увеличения общей железосвязывающей способности сыворотки). Выявлены нарушения пуринового обмена, приводящие к интенсификации процессов ПОЛ мембранных структур и активации антиоксидантной системы крови с интенсификацией метаболизма глутатиона, приводящие к усилению деградации эритроцитов.

Ключевые слова: гипохромная анемия, дети, экологическая ситуация, перекисное окисление липидов, деградация эритроцитов.

Артюкова Светлана Ивановна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики детских болезней и поликлинической педиатрии ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (3812) 74-02-34, e-mail: kafpdb@mail.ru

Антонов Олег Владимирович — доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой пропедевтики детских болезней и поликлинической педиатрии ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (3812) 74-02-34, e-mail: kafpdb@mail.ru

Введение. Анемии являются наиболее широко распространенными заболеваниями в детской популяции в основном за счет железодефицитной формы. Дефицит железа,

в той или иной степени выраженности, имеется у 30 % населения планеты [2, 5]. В нашей стране распространенность дефицита железа (латентные и манифестные клинические формы) составляет от 17,5 % у школьников до 76 % у детей раннего возраста. Несмотря на относительную легкость диагностики и высокую распространенность у детей, трудности в постановке диагноза железодефицитной анемии (ЖДА) все-таки существуют. Следует внимательно относиться к дифференциальной диагностике ЖДА с другими видами гипохромных анемий. Опасность гипердиагностики ЖДА обусловлена тем, что при ряде других заболеваний со схожей симптоматикой лечение препаратами железа не только не приносит результата, а, наоборот, противопоказано из-за возможности тяжелых осложнений. Так у детей с гипохромными анемическими состояниями, протекающими на фоне острых и хронических воспалительных заболеваний, отмечаются повышенные уровни ферритина сыворотки и гепсидина, связанные с функциональным дефицитом железа [6]. Гетерогенность гипохромных анемий обусловлена наличием форм с классическим (при ЖДА) и атипичным распределением феррокинетических показателей и форм анемии, характеризующихся отсутствием изменений показателей феррокинетики [3].

Авторы констатируют изменение процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) мембран эритроцитов на фоне анемии [1-3], но не приводят данных о комплексном исследовании параметров пуринового обмена, процессов ПОЛ, ферментативного и неферментативного звена системы антиперекисной защиты (САПЗ) у детей раннего возраста с анемией легкой и средней степени тяжести. Пусковые механизмы деструкции мембранных структур при экологическом неблагополучии и роль нарушений пуринового обмена в активации свободнорадикальных реакций недостаточно изучены.

Цель исследования: определение характера нарушений процессов ПОЛ, САПЗ, пуринового и энергетического обмена у детей грудного и раннего возраста с гипохромной анемией.

Материал и методы. В работе обобщены результаты обследования 102-х детей в возрасте от 6-ти месяцев до 3-х лет, 72 из которых проживали в г. Омске вдоль главных автомагистралей города и страдали анемией (основная группа), а 30 детей были практически здоровыми и проживали в Омской области (группа сравнения).

Отбор контингентов методом «копия — пара» позволил сформировать группы наблюдения однородные по возрастному составу, социально-бытовым условиям жизни, уровню материальной обеспеченности, доступности квалифицированной медицинской помощи. Критерием формирования групп явилось также постоянное проживание детей на указанных территориях и посещение детских дошкольных учреждений, расположенных в зоне влияния выбросов промышленных предприятий.

Программа обследования включала анализ историй развития детей, клиническое обследование, лабораторные клинические и биохимические анализы. Проводились стандартные клинические исследования крови. С целью верификации диагноза анемии в периферической крови гемоглобинцианидным методом гемоглобинометром КФК-2 определяли уровень гемоглобина, подсчитывали количество ретикулоцитов и эритроцитов на аппарате ПС-5 («Пикосаль», Венгрия), вычисляли цветовой показатель и среднее содержание гемоглобина в одном эритроците. Проводили исследование морфологических характеристик эритроцитов (величины, формы, окраски, клеточных включений) в мазках крови. Согласно рекомендациям ВОЗ (1973), в качестве критерия анемии принят уровень гемоглобина в периферической крови у детей до 5-ти лет менее 110 г/л.

Исследование сывороточного железа и общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) с расчетом коэффициента насыщения трансферрина железом (КНТЖ) и латентной железосвязывающей способности сыворотки проводилось фотометрическим тестом с помощью набора Humanironliqicolor с фактором очистки липидов на клиническом анализаторе «Haemolizer-2000». Осмотическую резистентность эритроцитов определяли унифицированным методом в модификации Л. И. Идельсона (1974).

Исследование процессов ПОЛ и антиоксидантного статуса проводилось на эритроцитах периферической крови. В качестве оценки окислительных процессов и степени гипоксии в крови исследовалась концентрация молочной кислоты по Н. Нohorst (1970). Интенсивность процессов ПОЛ оценивалась по содержанию вторичных ТБК-активных продуктов и малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах по И. Д. Стальной и Т. Г. Гаришвили (1977). О сопряженности процессов ПОЛ и пуринового обмена судили по содержанию мочевой кислоты по G. Oteteaetal (1976). Состояние антиоксидантной системы оценивалось по активности супероксиддисмутазы (СОД) по В. Н. Чумакову и Л. Ф. Осинской (1977), каталазы — по В. Д. Конваю и А. В. Лукошкину (1989), глутатионредуктазы (ГР) — по Racher (1955), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) — по Ю. Л. Захарьину (1968), а содержание глутатиона определялось по J. Sedlacand, R. H. Lindsey (1968).

Математическая обработка полученных результатов проводилась на персональном компьютере методами вариационной статистики с вычислением математического ожидания (М — средней), среднего показателя (Р), ошибки средней (m). Для оценки достоверности полученных результатов использовались параметрические и непараметрические методы статистики: критерии t-Стьюдента и U-Манна-Уитни-Вилкоксона. Проводился корреляционно-регрессионный анализ количественных показателей с определением коэффициента корреляции Пирсона[®], коэффициента ранговой корреляции (r) и установлением достоверности соответствующей корреляционной связи.

В зависимости от изменения феррокинетических показателей 72 ребенка с анемией были разделены на 2 группы. В 1-ю группу вошло 34 ребенка с ЖДА, а во 2-ю группу было включено 38 детей с анемией, у которых показатели обмена железа не были изменены.

Лабораторное обследование детей с анемией включало стандартные исследования гематологических показателей (табл. 1).

Таблица 1

Показатели периферической красной крови у обследованных детей, М ± m

Показатели	Здоровые дети, n = 30	1-я группа, n = 34	2-я группа, n = 38
Гемоглобин, г/л	125,0 ± 0,30	90,76 ± 2,81	105,3 ± 2,13
Эритроциты, 10 ¹² /л	3,8 ± 0,02	3,2 ± 0,13	3,5 ± 0,11
Цветовой показатель	0,94 ± 0,03	0,85 ± 0,02	0,88 ± 0,03
Ретикулоциты	3,2 ± 1,42	6,7 ± 1,25	7,71 ± 1,87*
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	32,89 ± 1,08	32,42 ± 1,47	31,23 ± 1,03
Микроцитоз MCV	—	++	+
Пойкилоцитоз	—	+	+

Гипохромия эритроцитов МСН	—	+	+
----------------------------	---	---	---

Примечание: * — достоверные различия между контролем и детьми с анемией ($p < 0,05$).

Обсуждение результатов. При подсчете средних величин отмечалось снижение содержания гемоглобина, более выраженное при ЖДА, так как при этой форме анемии встречались не только легкие, но и среднетяжелые степени заболевания. У детей 2-й группы с анемией на фоне нормальных показателей феррокинетики снижение гемоглобина соответствовало легкому течению болезни. Содержание ретикулоцитов в периферической крови у детей с анемией было выше, чем в контроле, что свидетельствует о нормальной регенераторной способности костного мозга. Состояние обмена железа в организме детей оценивалось по содержанию сывороточного железа, определению ОЖСС и расчету КНТЖ (табл. 2).

Таблица 2

Феррокинетические показатели детей с анемией, $M \pm m$

Показатели	Сывороточное железо, мкмоль/л	ОЖСС, мкмоль/л	КНТЖ, %
1-я группа, n = 34: ↓СЖ, ↑ОЖСС, n = 17 ↓СЖ, ОЖСС-норма, n = 17	9,2 ± 0,6 ^{^^^} 10,1 ± 0,5 ^{^^^}	69,0 ± 1,7 ^{^^^} 45,1 ± 0,9	14,9 ± 1,0 ^{^^^} 26,8 ± 1,0
2-я группа, n = 38: СЖ, ОЖСС — норма	21,3 ± 1,0	49,1 ± 2,0	37,8 ± 5,5

Примечание: ^, ^^, ^^^ — достоверные отличия между 1-й и 2-й группами ($p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$)

Полученные результаты определяли гетерогенный характер анемии в 1-й группе — выявлены формы с классическим для ЖДА распределением феррокинетических показателей (при снижении уровня сывороточного железа отмечается увеличение ОЖСС) и атипичным распределением феррокинетических показателей (при снижении уровня сывороточного железа не отмечалось закономерного увеличения ОЖСС). У детей 2-й группы с анемией уровень показателей, отражающих состояние обмена железа в организме, не был изменен. Такими характеристиками обладают железоперераспределительные анемии, встречающиеся при различных воспалительных заболеваниях как инфекционного, так и неинфекционного происхождения и сидероахристические анемии. Одним из основных механизмов развития железоперераспределительных анемий считается перераспределение железа в клетки макрофагальной системы, активирующейся при различных воспалительных процессах. Поступающее в организм и высвобождающееся из разрушающихся эритроцитов железо переходит главным образом в депо, где и накапливается в макрофагальных клетках в виде железосодержащего белка ферритина. Включение железа в эритроидные клетки костного мозга при этом снижено.

Лечение должно быть направлено на устранение активного воспалительного процесса. Назначение препаратов железа обычно неэффективно и лишь затягивает своевременное выявление основной причины анемии и соответствующую терапию [6].

Достоверное отличие у детей с анемией на фоне нормальных показателей феррокинетики по показателю осмотической резистентности эритроцитов по сравнению со здоровыми детьми ($p < 0,05$) может свидетельствовать о сокращении сроков жизни эритроцитов

у больных. Склонность эритроцитов детей с анемией к осмотическому лизису подтверждает это положение (табл. 3).

Таблица 3

Осмотическая резистентность эритроцитов у обследованных детей в процентах разведения раствора NaCl, $M \pm m$

Показатель	Контроль, n = 10	1-я группа, n = 10	2-я группа, n = 10
Минимальная резистентность	0,45 ± 0,02	0,51 ± 0,03	0,69 ± 0,02***^^
Максимальная резистентность	0,33 ± 0,02	0,38 ± 0,02	0,42 ± 0,01***

Примечание: *** — достоверные различия между контролем и детьми с анемией ($p < 0,001$); ^^ — достоверные различия между 1-й и 2-й группами ($p < 0,01$)

Эритроциты очень быстро изменяют свои функциональные свойства при воздействии токсических факторов малой интенсивности. При этом изменения красной крови еще до появления лабораторно регистрируемых признаков анемии, либо при ее малой степени, касаются увеличения вязкости эритроцитов и изменений структуры мембраны с повышением ее чувствительности к осмотическому, перекисному лизису и механическим воздействиям.

В комплекс обследования детей с анемией были включены методы исследования состояния системы ПОЛ, САПЗ, а также пуринового обмена, сопряженного с ними. По всем изучаемым параметрам у пациентов с обеими формами анемии в основной группе выявлены отклонения по сравнению с детьми, входящими в группу сравнения (табл. 4).

Таблица 4

Показатели энергетического обмена, ПОЛ, антиоксидантной системы у детей с анемией, $M \pm m$

Показатели	Контрольная группа, n = 30	1-я группа, n = 17	2-я группа, n = 23
Молочная кислота, ммоль/л	0,50 ± 0,07	0,58 ± 0,04	0,69 ± 0,05***
Мочевая кислота, ммоль/л	0,11 ± 0,01	0,15 ± 0,01**	0,14 ± 0,01*
СОД, ед/г эритроц.	231 ± 17	321 ± 38*	316 ± 36*
Каталаза, ед/г мин эритроц.	2054 ± 151	2123 ± 252	3014 ± 164***
МДА, мэкв/л	0,16 ± 0,03 n = 6	0,28 ± 0,04	0,33 ± 0,04*
Глутатион, мкмоль/л	0,49 ± 0,06	0,78 ± 0,05**	0,80 ± 0,04***
ГР, ммоль/(ч л)	21,07 ± 1,24	33,57 ± 5,25*	29,47 ± 1,89**
Г-6-ФДГ, ммоль/(ч·л)	1,57 ± 0,07	2,19 ± 0,11***	2,51 ± 0,31**

Примечание: *, **, *** — достоверные различия между контролем и детьми с анемией; (соответственно $p < 0,05$; $p < 0,01$; $p < 0,001$)

Увеличение уровня лакцидемии, отражающее компенсаторное ускорение реакций анаэробного гликолиза на фоне гипоксии, констатировалось у детей с обеими формами анемии, но было достоверным лишь у детей с анемией на фоне нормальных показателей

обмена железа.

Косвенным свидетельством происходящей в условиях гипоксии активации фермента ксантиноксидазы, катализирующей процесс распада гипоксантина до мочевой кислоты и супероксидного радикала, явилось достоверное увеличение уровня урикемии у детей с анемией. Супероксидный радикал, образующийся в процессе распада гипоксантина, активизировал ферментативное звено САПЗ и в процессе супероксиддисмутазной реакции генерировал образование перекиси водорода, которая представляет не меньшую опасность для клеток, чем O_2 . Подтверждением этого было статистически достоверное увеличение активности в эритроцитах пациентов с анемией фермента СОД. Уровень активности каталазы достоверно увеличивался у детей 2-й группы с анемией, а при ЖДА отмечалась лишь тенденция к ее увеличению на 3,4 % от значения детей контрольной группы. Это связано с затруднением биосинтеза этого железосодержащего фермента на фоне сидеропении.

Несмотря на увеличение активности ферментов САПЗ у детей с анемией, интенсивность процессов ПОЛ не только не снижалась, но даже увеличивалась. Об этом свидетельствовало статистически достоверное повышение содержания МЛА в эритроцитах как у детей с ЖДА, так и у детей с анемией на фоне нормальных показателей обмена железа, что значительно превышало аналогичное значение здоровых детей.

Вышеуказанные нарушения сочетались со статистически достоверным увеличением содержания глутатиона в эритроцитах детей с обеими формами анемии, чему способствовало повышение активности важнейших ферментов его метаболизма — ГР, а также ключевого фермента пентозного цикла — Г-6-ФДГ. Это можно расценить как компенсаторный механизм, направленный на усиленное восстановление глутатиона, участвующего не только в защите клетки от перекисных соединений, но и в обезвреживании ксенобиотиков, электрофильных соединений и тяжелых металлов. Участие глутатиона в процессах детоксикации экопатогенов позволяет характеризовать степень их токсичного действия. Следовательно, можно предположить, что нарушение метаболизма этого низкомолекулярного тиола у детей с анемией г. Омска может иметь критериальное значение в оценке благополучия экологического статуса территории наблюдения.

С целью выявления биохимических маркеров предрасположенности ребенка к неадекватным реакциям на воздействия прооксидантов, что выражается в низкой степени антирадикальной защиты, проведен корреляционный анализ показателей ПОЛ у детей с ЖДА и их матерей (табл. 5).

Таблица 5

Корреляционная зависимость между показателями энергетического, пуринового обмена, ПОЛ и системы антиперекисной защиты у детей с ЖДА и их матерей, М ± m

Показатели	Матери детей с ЖДА, n=12	Дети с ЖДА, n = 12	Коэффициент ранговой корреляции
Молочная кислота, ммоль/л	0,59 ± 0,04	0,68 ± 0,07	0,99 ± 0,05***
Мочевая кислота, ммоль/л	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,93 ± 0,30**
СОД, ед/г-эритроцитов	331 ± 30	339 ± 38	0

Каталаза, ед/г·мин·эритро.	2876 ± 236	2174 ± 154	0
МДА, мэкв/л	0,41 ± 0,12	0,42 ± 0,11	0,98 ± 0,06***
Глутатион, мкмоль/л	0,66 ± 0,03	0,62 ± 0,02	0,93 ± 0,12***
ГР, ммоль/(ч·л)	34,3 ± 3,7	36,1 ± 3,8	0

Примечание: **, *** — достоверность коэффициента корреляции показателей детей с анемией и их матерей (соответственно $p < 0,01$; $p < 0,001$)

Выявлено, что о семейном характере снижения функции САПЗ свидетельствует высокая степень достоверности коэффициента ранговой корреляции показателей молочной кислоты, мочевой кислоты, МДА и глутатиона. Это позволило сделать вывод, что увеличение этих показателей у матерей может считаться диагностическим критерием при прогнозировании анемии у детей.

Таким образом, важнейшим патогенетическим звеном формирования анемии у детей, проживающих в условиях экологического неблагополучия мегаполиса, является дисбаланс системы «ПОЛ — антиокислительная активность крови», что приводит к усилению образования токсических продуктов перекисления, которые воздействуют на структурную целостность эритроцитарных мембран и приводят к интенсификации процессов деградации эритроцитов.

Выводы

1. Характерными чертами анемии у детей грудного и раннего возраста являются: преобладание форм с легким течением; наличие эритроцитопении, микроцитоза, нормо- и гипохромии, гетерогенность анемии с наличием ЖДА, форм с атипичным соотношением феррокинетических показателей (при снижении сывороточного железа отсутствие закономерного увеличения ОЖСС); наличие форм анемии с нормальным уровнем сывороточного железа и ОЖСС, что свойственно железоперераспределительным процессам при инфекционно-воспалительных заболеваниях и не требует лечения препаратами железа.
2. Факторами предрасположенности к анемии у детей, дополняющими комплекс маркеров для формирования групп риска при профилактике, являются: увеличение концентрации в крови матерей пациентов молочной кислоты $^3 0,59$ ммоль/л, мочевой кислоты $^3 0,12$ ммоль/л; содержания МДА в эритроцитах $^3 0,4$ мэкв/л; уровня глутатиона в эритроцитах $^3 0,66$ мкмоль/л.
3. Важнейшим патогенетическим звеном формирования анемии у детей является дисбаланс системы ПОЛ — антиокислительная активность крови, что приводит к усилению образования токсических продуктов перекисления, которые воздействуют на структурную целостность эритроцитарных мембран и приводят к интенсификации процессов деградации эритроцитов, что подтверждается снижением показателя осмотической резистентности эритроцитов у детей с анемией и нормальными значениями феррокинетики.

Список литературы

1. Активные формы кислорода как система : значение в физиологии, патологии и естественном старении / В. И. Донцов [и др.] // Труды ИСА РАН. — 2006. — Т. 19. — С. 50–69.
2. Анемия скрытая эпидемия ; пер с англ. // Национальный Комитет действий по анемии США (National Anemia Action Council — NAAC) ; ed. : Health Vision Communie. Inc. Sherry Kahn, MPH. — М. : «МегаПро», 2004.

3. Артюкова С. И. Факторы риска и коррекция анемии у детей раннего возраста в условиях поликлиники крупного промышленного центра : автореф. дис. ... канд. мед. наук / С. И. Артюкова. — Тюмень, 2002. — 28 с.
4. Бегова С. В. Процессы перекисного окисления липидов и система антиоксидантной защиты сыворотки крови у многорожавших женщин с гестозом в сочетании с железодефицитной анемией / С. В. Бегова, З. М. Османова, Н. С.-М. Омаров // Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. — 2007. — Т. 6, № 3. — С. 23-27.
5. Коровина Н. А. Железодефицитные анемии у детей / Н. А. Коровина, А. Л. Заплатников, И. Н. Захарова. — М. : Тегро1, 2001. — 45 с.
6. Некоторые аспекты мембранных нарушений при экологозависимых синдромах поражения крови у детей раннего возраста / Т. А. Кулакова [и др.] // Тез. докл. IX Съезда педиатров России. — М., 2001. — С. 34.

STATE OF INDICATORS OF FERROKINETICS AND PROCESSES OF PEROXIDATION OF LIPIDS AT CHILDREN WITH HYPOCHROMIC ANEMIA

[S. I. Artyukova, O. V. Antonov](#)

SBEI HPE «Omsk State Medical Academy» of Ministry of Health (Omsk)

Complex research of processes of the peroxidation of lipids (POL), system of antiperoxide protection, purine and power exchange at 120 children of early age from Omsk with anemia of chest is conducted. It is established that hypochromic anemia at children of early age of the large industrial center is heterogeneous due to existence of forms with classical (at iron deficiency anemia) and atypical ratio of ferrokinetic indicators (at decrease in serum iron lack of natural increase in the general iron-binding ability of serum). The violations of purine exchange leading to intensification of POL processes in membrane structures and activation of antioxidant system of blood with a glutathione metabolism intensification, leading to strengthening of degradation of erythrocytes are revealed.

Keywords: hypochromic anemia, children, ecological situation, peroxidation of lipids, degradation of erythrocytes.

About authors:

Artyukova Svetlana Ivanovna — candidate of medical science, assistant professor of chair of pediatric propaedeutics diseases and polyclinic pediatrics at SBEI HPE «Omsk State Medical Academy» of Ministry of Health, office phone: 8 (3812) 74-02-34, e-mail: kafpdb@mail.ru

Antonov Oleg Vladimirovich — doctor of medical science, assistant professor, head of chair of pediatric propaedeutics diseases and polyclinic pediatrics at SBEI HPE «Omsk State Medical Academy» of Ministry of Health, office phone: 8 (3812) 74-02-34, e-mail: kafpdb@mail.ru

List of the Literature:

1. Active forms of oxygen as system : value in physiology, pathology and natural aging / V. I. Dontsov [et al.] // Works ISA of the Russian Academy of Sciences. — 2006. — Vol. 19. — P. 50-69.
2. Anemia hidden epidemic ; translation from English // National Anemia Action Council — NAAC ; ed. : Health Vision Communie. Inc. Sherry Kahn, MPH. — M. : «Megapro», 2004.
3. Artyukova S. I. Risk factors and correction of anemia at children of early age in the conditions of policlinic of the large industrial center : theses.... cand. of medical science / S. I. Artyukova. — Tyumen, 2002. — 28 p.
4. Begova S. V. Processes of peroxidation of lipids and system of antioxidant protection of blood serum at the pluripara women with gestosis in combination with iron deficiency

- anemia / S. V. Begova, Z. M. Osmanov, N. S.-M. Omarov // Issues of gynecology, obstetrics and perinatology. — 2007. — Vol. 6, N 3. — P. 23-27.
5. Korovina N. A. Iron deficiency anemias at children / N. A. Korovina, A. L. Zaplatnikov, I. N. Zakharova. — M. : Terpol, 2001. — 45 p.
 6. Some aspects of membrane violations at the ecological dependent syndromes of blood defeat at children of early age / T. A. Kulakova [et al.] // Theses of IX Congress of pediatricians of Russia. — M., 2001. — P. 34.