

Л.Б. Корякина, Е.О. Андреева, Э.Э. Кузнецова, В.Г. Горохова, В.В. Садах,
Т.Е. Курильская, Ю.И. Пивоваров, А.А. Рунович, Т.В. Трускова

ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭРИТРОЦИТАРНЫЕ КОМПОНЕНТЫ И ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ У БОЛЬНЫХ ИБС С РАЗНОЙ СТЕПЕНЬЮ ТЯЖЕСТИ СТЕНОКАРДИИ НАПРЯЖЕНИЯ

НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

В результате проведенного исследования установили, что степень выраженности ответной реакции на ишемическую пробу у практически здоровых людей и больных ИБС с различной степенью стенокардии существенно различаются, что свидетельствует о разном функциональном состоянии эндотелия. Полученные данные позволили выявить наиболее информативные показатели, которые отличали ответную реакцию на ишемическую пробу в исследуемых группах.

Ключевые слова: эритроциты, эндотелий, больные ИБС

HEMORHEOLOGIC AND ERYTHROCYTIC COMPONENTS AND FUNCTION OF ENDOTHELIUM IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE WITH DIFFERENT DEGREE OF SEVERITY OF EXERTIONAL ANGINA

L.B. Koriakina, E.O. Andreyeva, E.E. Kuznetsova, V.G. Gorokhova, V.V. Sadakh,
T.E. Kurilskaya, Yu.I. Pivovarov, A.A. Runovich, T.V. Truskova

SC RRS ESSC SB RAMS, Irkutsk

After conducted investigations it was established that degrees of manifestation of feedback on ischemic test in practically healthy people and patients with CHD with different degree of stenocardia differ significantly. It testifies to different functional state of endothelium. Obtained data revealed the most informative parameters which were characteristics of feedback on ischemic test in studied groups.

Key words: erythrocytes, endothelium, patients with CHD

Современные представления о механизме развития атеросклероза основываются на признании важного значения нарушений эндотелиальной функции сосудов и реологических свойств крови. Считается, что реологические свойства крови в норме и патологии зависят от функционального состояния эритроцитарной мембраны и состава плазмы крови, определяющих вязкость крови и плазмы, деформационные и агрегационные свойства эритроцитов [5]. На сегодняшний день в литературе существует не так много работ, где комплексно и во взаимосвязи рассматривалось бы функциональное состояние эндотелия сосудов, метаболическая функция эритроцитов и реологические свойства крови у больных ИБС. В том числе отсутствуют сведения о влиянии гемореологических компонентов на функциональное состояние эндотелия у пациентов с ИБС.

Цель настоящей работы: оценить характер взаимосвязи гемореологических компонентов и эритроцитов с функцией эндотелия у больных ИБС с разной степенью тяжести стенокардии напряжения.

МЕТОДЫ И ОБЪЕМ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовали 40 больных с различными функциональными классами стенокардии напряжения: 20 пациентов со II классом тяжести стенокардии напряжения и 20 больных с III классом тяжести стенокардии напряжения в возрасте $54,5 \pm 1,12$ года.

Диагноз стенокардии напряжения устанавливали по общепринятым клинико-лабораторным критериям в соответствии с классификацией ВОЗ (1979), адаптированной Всесоюзным кардиологическим научным центром (1983) (по классификации Канадской ассоциации кардиологов). В качестве контроля обследовано 13 практически здоровых людей, без проявлений сердечно-сосудистой патологии в возрасте $33,2 \pm 0,55$ года.

Кровь для исследования брали натошак из локтевой вены конечности до и после ишемической нагрузки. Для создания кратковременной (5 мин) локальной ишемии накладывали манжету сфигмоманометра на плечо пациента и создавали в ней давление, превышающее систолическое давление на 10 мм.

Оценку функционального состояния эндотелия сосудов осуществляли следующими методами исследования: уровень нитритов [4], фактор Виллебранда, антиагрегационная активность эндотелия по агрегации тромбоцитов с АДФ и обедненной тромбоцитами плазмой крови [1], уровень МДА в плазме крови и эритроцитах [2], определение циркулирующих в крови эритроцитарных агрегатов [3]. Исследование реологических свойств крови проводили с использованием анализатора крови реологического АКР-2. Измерение вязкости крови проводили при скоростях сдвига 200, 100, 50, 30, 20, 10 с^{-2} . [5]

Для оценки структурно-функциональных свойств эритроцитов использовали следующие методы:

- определение суммарного метаболического пула и уровня окисленных адениловых нуклеотидов мембран эритроцитов (ПА № 2296992 от 10.04.2007);
- исследование содержания метгемоглобина как показателя обменных процессов в клетке (М.С. Кушаковский, 2003);
- определение мембранносвязанного гемоглобина (структурного фрагмента мембраны эритроцита (З.С. Токтамысова, Н.Х. Биржанова, 1990), также рассчитывали коэффициент транспортной способности крови (Добродей М.А., 1990).

Кроме того, у всех пациентов и здоровых лиц проводилось ультразвуковое исследование плечевой артерии до и после окклюзионной пробы на ультразвуковом сканере «GE» LOGIC 700 pro фирмы General Electric (США) с помощью мультисекционного линейного датчика 5 — 10 МГц (Березин А.Е., 2000). Для статистической обработки данных использовали дескриптивный, многофакторные дискриминантный и регрессионный виды анализа с использованием пакета программ «Statistics 6.0 for Windows».

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования было установлено, что у больных II и III класса тяжести стенокардии напряжения в исходе, в отличие от лиц контрольной группы, имеется высокая концентрация фактора Виллебранда, нарастание агрегации эритроцитов, увеличение количества окисленных нуклеотидов и гемоглобина в мембранах эритроцитов, повышение уровня МДА в плазме крови и эритроцитах, повышение вязкости крови в магистральных сосудах и микроциркуляторном русле (табл. 1). У лиц контрольной группы ишемическая нагрузка не выявила значительных изменений ни в одном из изучаемых параметров. При этом у пациентов II и III ф.кл. было установлено повышение антиагрегационной активности тромбоцитов, увеличение гемоглобина в мембранах эритроцитов, продуктов перекисного окисления, повышение количества окисленных нуклеотидов и вязкости крови в магистральных сосудах и в микроциркуляторном русле. Необходимо отметить, что пациентов обоих классов стенокардии напряжения уровень анализируемых параметров не имел существенных межгрупповых отличий, как в исходном состоянии, так и после ишемической нагрузки. Исходя из этого, был проведен сравнительный анализ по степени отклонения изучаемых параметров от исходного состояния (табл. 2). Проведенный анализ показал, что ни одно из отклонений гемореологических показателей и функциональных параметров эндотелия больных, имеющих разную степень тяжести стенокардии напряжения, не имело существенных отличий, за исключением антиагрегационной активности.

Кроме того, больные стенокардией напряжения отличались от пациентов контрольной группы по двум параметрам — уровню МДА в плазме и антиагрегационной активности тромбоцитов.

Таким образом, дескриптивный анализ данных не позволил выявить существенную разницу в изменениях показателей, отражающих эндотелиальную функцию, гемореологические характеристики и структурно-метаболические свойства эритроцитов.

В связи с этим, был проведен многофакторный дискриминантный анализ, на основе которого строилось уравнение канонических величин, позволяющие выявить наиболее информативные дифференцируемые параметры. Дискриминацию проводили с учетом изменений *дельты*. Выявлено, что дельта антиагрегационной активности и гематокрита являются наиболее информативными характеристиками классификации лиц контрольной группы и больных со II функциональным классом. Уравнение канонической величины в этом случае состоит из двух переменных и выглядит следующим образом:

$$K = 0,71 - 0,93 \times \text{ААА} + 0,60 \text{ НСТ}$$

Мера Махаланобиса, с помощью которой оценивается сумма квадратов рассеяния между значениями канонических величин составила — 2,88 ($p < 0,002$). На основе дискриминантной функции, выраженной через наиболее значимые показатели, рассчитана классификационная матрица отнесения пациентов в группу контроля и группу больных со II функциональным классом. Суммарный показатель классификационной матрицы составляет 76 %, что является достаточно высоким показателем для дифференциации групп. Характер распределения лиц группы сравнения и больных по данным канонических величин представлен на рисунке 1.

При сравнении группы больных с III ф.к. и лиц контрольной группы установлено пять показателей, которые имеют наибольшее значение для дифференциации групп: сорбционная способность эритроцитов, гематокрит, уровень нитритов, агрегация эритроцитов Антиагрегационная активность тромбоцитов. Уравнение канонических величин представлено следующим образом:

$$K = 2,56 + 1,92 \times \text{С.эр.} - 2,0 \times \text{НСТ} + 1,06 \text{ Нит.} + 1,38 \times \text{агр.эр.} - 0,63 \times \text{ААА}$$

Мера Махаланобиса — 10,25 ($p < 0,01$), что характеризует статистически значимое различие между больными с III ф. кл. и контролем. Суммарный показатель классификация является очень высоким значением дифференциации групп и равен 98 %.

Диаграмма распределения лиц контроля и пациентов III ф.кл. по значениям канонической величины представлена на рисунке 2.

Проведенное исследование показало, что наиболее информативными показателями, разделяющими пациентов обоих классов были антиагрегационная активность и вязкость крови со скоростью сдвига — 100. Уравнение канонических величин в этом случае выглядит следующим образом:

Таблица 1
Изменения показателей гемостаза, реологических свойств крови и данных ультразвукового исследования диаметра плечевой артерии у больных стенокардией напряжения разной степени тяжести до и после ишемической нагрузки

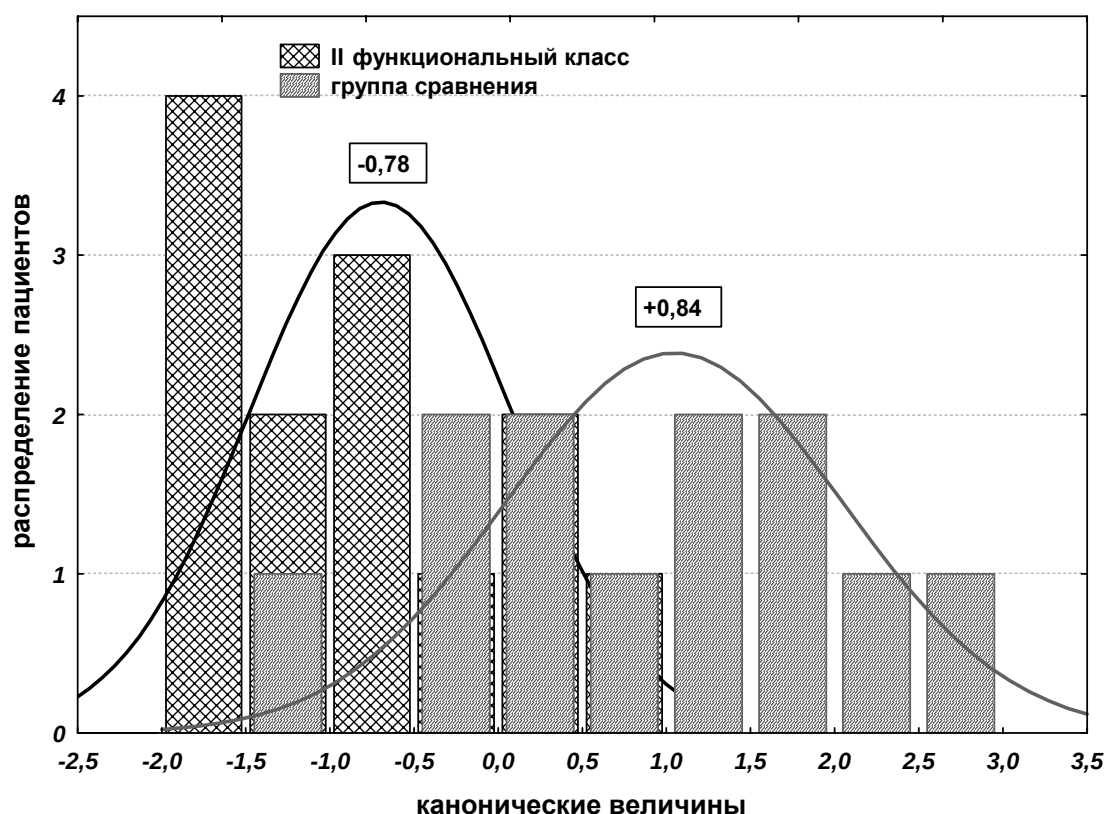
Параметры	2 класс		3 класс		Контроль	
	исход	ишемия	исход	ишемия	исход	ишемия
Уровень нитритов (Нит.)	3,0 ± 0,56	3,27 ± 0,02	2,94 ± 0,24	3,63 ± 0,63	2,27 ± 0,47	2,35 ± 0,40
Фактор Виллебранда (Ф.В)	132,2 ± 19*	151,8 ± 9,5*	191,9 ± 21,0 ²	170,4 ± 15,0 ²	113,7 ± 10,0	115,18 ± 19,0
Антиагрегационная активность (ААА)	34,5 ± 1,8	40,42 ± 2,0*	37,8 ± 3,5	43,77 ± 1,6	34,5 ± 3,05	32,55 ± 2,1
Агрегация эритроцитов (Агр.эр)	3,02 ± 1,2	1,64 ± 0,72*	2,21 ± 2,3	2,27 ± 0,68 ²	2,12 ± 0,39	1,9 ± 0,264
Гематокрит – НСТ	47,7 ± 1,73	47,4 ± 1,59	47,6 ± 2,02	46,0 ± 1,31	44,2 ± 0,97	44,2 ± 0,99
Сорбционная способность эритроцита (С. Эр)	2,41 ± 0,44*	2,72 ± 0,29*	2,17 ± 0,23*	2,90 ± 0,39*	1,24 ± 0,14	0,90 ± 0,10
Содержание протеина (С.пр.)	0,04 ± 0,03	0,008 ± 0,002	0,021 ± 0,009*	0,008 ± 0,005	0,10 ± 0,003*	0,03 ± 0,01
Содержание нуклеотидов (С.нук.)	0,12 ± 0,03	0,115 ± 0,022	0,109 ± 0,01	0,109 ± 0,002	0,07 ± 0,01	0,03 ± 0,13
Мембрансвязанный гемоглобин (Мет НВ)	2,11 ± 0,64	2,27 ± 0,33	2,58 ± 0,66	3,4 ± 0,89	0,85 ± 0,24	1,19 ± 0,30
Транспортная способность крови (Тр..кр.)	4,90 ± 0,33	4,97 ± 0,21	4,66 ± 0,32*	4,73 ± 0,21*	5,6 ± 0,17	5,58 ± 0,15
МДА плазмы	0,94 ± 0,04*	1,02 ± 0,049	1,159 ± 0,24	1,15 ± 0,21	0,78 ± 0,057	0,78 ± 0,06
МДА эритроцитов	8,4 ± 0,38	8,91 ± 0,54	10,01 ± 1,3	10,01 ± 1,44	7,77 ± 0,84	8,16 ± 0,38
Вязкость крови (200) (V – 200)	6,92 ± 0,7*	6,45 ± 0,36	6,18 ± 0,29	6,26 ± 0,32*	5,24 ± 0,137	5,24 ± 0,29
Вязкость крови (100) (V – 100)	6,77 ± 0,7	7,29 ± 0,48	6,98 ± 0,42*	7,0 ± 0,34*	5,89 ± 0,19	5,7 ± 0,34
Вязкость крови (50) (V – 50)	8,96 ± 0,85	8,73 ± 0,84	8,14 ± 0,54*	8,23 ± 0,37*	6,9 ± 0,23	6,9 ± 0,30
Вязкость крови (30) (V – 30)	10,15 ± 0,91	10,05 ± 0,84	9,6 ± 0,71*	9,5 ± 0,42*	7,93 ± 0,29	7,87 ± 0,51
Вязкость крови (20) (V – 20)	11,6 ± 1,13	11,71 ± 0,86	11,3 ± 0,88*	11,7 ± 0,69*	9,2 ± 0,31	9,20 ± 0,61
Вязкость крови (10) (V – 10)	13,1 ± 1,53	14,23 ± 1,39	16,16 ± 0,57	17,08 ± 0,82*	13,25 ± 0,82	13,49 ± 1,04
Диаметр сосуда (Д)	4,59 ± 0,15	5,11 ± 0,13	4,76 ± 0,18	5,12 ± 0,12	4,16 ± 0,14	4,73 ± 0,14

Примечание: * – $p < 0,05$ – вероятность отклонения от данных группы сравнения по t-критерию для независимых величин; ² – $p < 0,05$ – вероятность отклонения 2 ф. кл. от 3 ф. кл. по t-критерию для независимых величин.

Таблица 2
Уровень отклонения гемореологических параметров и функциональных показателей эндотелия при ишемической пробе от исходного состояния, у лиц контрольной группы и больных стенокардией разной степени тяжести

Параметры	2 класс	3 класс	Контроль
Уровень нитритов (Нит.)	0,36 ± 0,32	0,53 ± 0,67	0,075 ± 0,24
Фактор Виллебранда (Ф.В)	12,63 ± 13,1	-1,5 ± 9,8	0,65 ± 5,47
Антиагрегационная активность (ААА)	7,81 ± 1,37*	0,08 ± 3,2 ²	-1,25 ± 2,38
Агрегация эритроцитов	0,76 ± 0,68	-0,18 ± 0,61	-0,51 ± 0,29
Гематокрит НСТ	0,46 ± 0,72	-4,21 ± 4,3	1,45 ± 0,54
Сорбционная способность эритроцита	0,099 ± 0,55	0,44 ± 0,43	-0,31 ± 0,11
Содержание протеина	0,03 ± 0,30	0,037 ± 0,02	0,037 ± 0,05
Содержание нуклеотидов	0,29 ± 0,03	0,01 ± 0,02	-0,02 ± 0,01
Мет НВ	0,41 ± 0,81	0,52 ± 0,75	0,23 ± 0,42
Транспортная способность крови	0,26 ± 0,41	0,31 ± 0,53	0,07 ± 0,26
МДА плазмы	0,74 ± 0,58*	0,15 ± 0,21	0,02 ± 0,03
МДА эритроцитов	3,7 ± 3,2	0,50 ± 1,75	0,77 ± 0,70
Вязкость крови (200)	0,26 ± 0,59	0,65 ± 0,58	0,07 ± 0,45
Вязкость крови (100)	1,2 ± 1,05	0,88 ± 0,69	0,12 ± 0,50
Вязкость крови (50)	0,66 ± 0,81	0,93 ± 0,85	0,25 ± 0,66
Вязкость крови (30)	0,86 ± 0,90	1,23 ± 1,062	0,11 ± 0,71
Вязкость крови (20)	1,12 ± 1,26	0,98 ± 1,33	0,01 ± 0,89
Вязкость крови (10)	1,92 ± 1,72	1,68 ± 1,59	0,15 ± 1,55
Диаметр сосуда (Д)	0,52 ± 0,15	0,50 ± 0,127	0,58 ± 0,14

Примечание: * – $p < 0,05$ – в сравнении с контролем (Манн – Уитни); ² – $p < 0,05$ с больными 2-го класса тяжести стенокардии.



ис. 1. Диаграмма распределения лиц группы сравнения и больных с II функциональным классом тяжести стенокардии напряжения в зависимости от значения канонических величин.

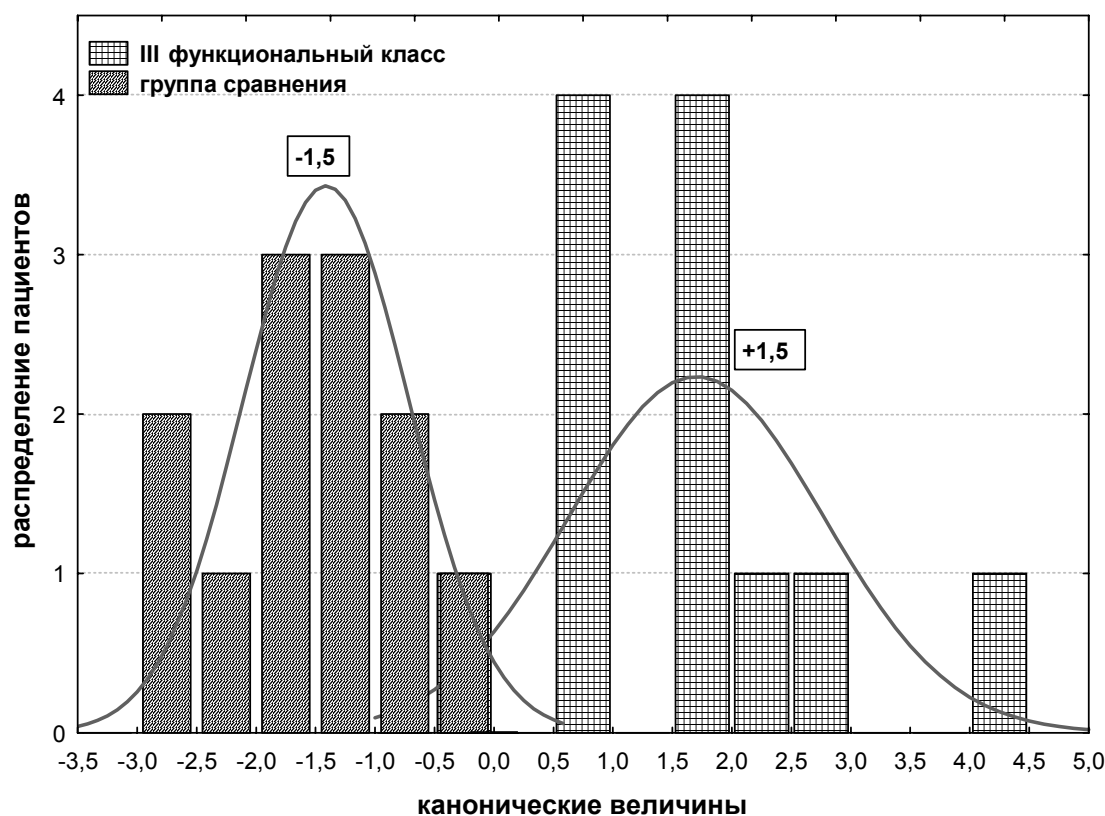


Рис. 2. Диаграмма распределения лиц группы сравнения и больных с III функциональным классом тяжести стенокардии напряжения в зависимости от значения канонических величин.

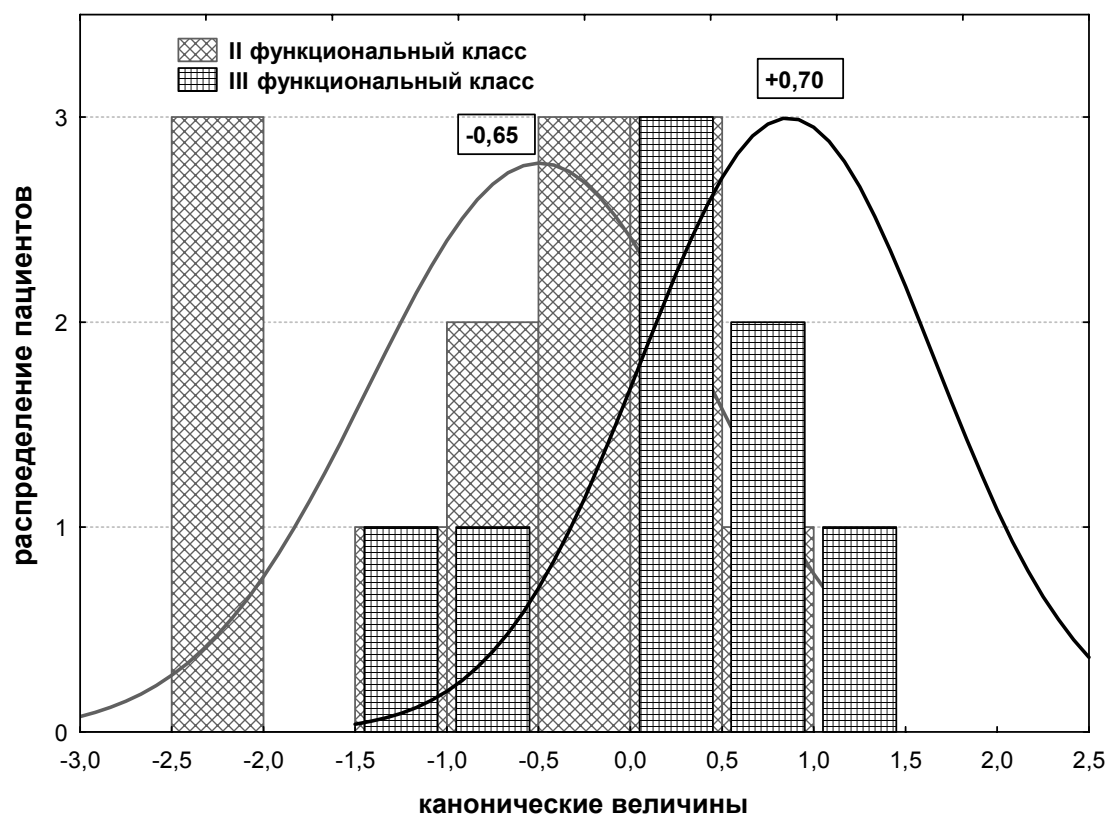


Рис. 3. Диаграмма распределения больных с различными функциональными классами тяжести стенокардии напряжения в зависимости от значения канонических величин.

$$K = 0,49 - 0,81 \times AAA - 0,61 \times V.100$$

Мера Махаланобиса, с помощью которой оценивается сумма квадратов рассеяния между значениями канонических величин составила 1,98 ($p < 0,07$).

Суммарный показатель классификация является достаточно высоким значением дифференциации групп и составляет 76 % (рис. 3).

Таким образом, установлены наиболее значимые показатели, разделяющие лиц контрольной группы и больных II и III ф.к. При этом, выявлено, чем более выражена стадия стенокардии напряжения, тем более существенны нарушения эндотелиальной функции, реологических свойств крови и морфофункциональных характеристик эритроцитов.

На следующем этапе работы был проведен многофакторный регрессионный анализ показателей эндотелиальной дисфункции сосудов. В качестве зависимой величины уравнения во всех исследуемых группах были выбран показатель, характеризующий эндотелийзависимую вазодилатацию степень изменения диаметра сосудов плечевой артерии при индукции потоком. В результате проведенного анализа были получены следующие уравнения множественной регрессии:

$$\begin{aligned} \text{Д} - \text{II ф.к.} = & 1,0 \times \text{Мет НВ} - 0,82 \times \text{ААА} - 0,47 \times \text{НСТ} - \\ & 2,66 \times \text{V20} + 1,43 \times \text{V10} - 0,09 \times \text{С.пр.} - 0,16 \times \text{С.эр.} - \\ & 3,11 \times \text{МДА эр.} + 3,09 \times \text{С.нукл.} + 0,2 \times \text{Ф.В.} + 0,96 \times \text{V.50}; R^2 = 0,89, p < 0,002 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Д} - \text{III ф.к.} = & 1,14 \times \text{тр.кр.} + 1,48 \times \text{Ф.В.} - 1,07 \times \text{С.нукл.} + \\ & 0,71 \times \text{агр.эр.} + 0,52 \times \text{С.пр.} - 1,18 \times \text{V.200} + 0,58 \times \text{V.10}; R^2 = 0,99, p < 0,01. \end{aligned}$$

Из представленных уравнений видно, что зависимость исследуемых параметров у больных со

II и III классом тяжести стенокардии напряжения определяется различными предикторами, обусловленных не только гемореологическими свойствами крови, но и взаимодействующими с ними структурно-метаболическими характеристиками эритроцитов, а, именно, мембрансвязанный гемоглобин, мет Гем, агрегация эритроцитов, уровнем МДА в эритроцитах, сорбционной способностью эритроцитов.

Коэффициент множественной регрессии, который определяет общую согласованность изменений показателей и суммарную информативность тех переменных, которые вошли в уравнение регрессии у пациентов с различной степенью тяжести, оказался достаточно высоким, что свидетельствует о тесной связи независимых показателей с нарушением вазодилатирующей функции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Степень выраженности ответной реакции на ишемическую пробу у практически здоровых людей и больных ИБС с различной степенью стенокардии существенно различаются, что свидетельствует о разном функциональном состоянии эндотелия. Чем более выражена стенокардия, тем более существенны нарушения эндотелиальной

функции, гемореологических свойств и морфофункциональных характеристик эритроцитов. Полученные данные позволили выявить наиболее информативные показатели, которые отличали ответную реакцию на ишемическую пробу в исследуемых группах. Это агрегация эритроцитов, концентрация фактора Виллебранда, уровень нитритов, мембрансвязанный гемоглобин, вязкость крови в микроциркуляции и магистральных сосудах, транспортная способность крови и содержание метгемоглобина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. — М.: Ньюдиамед, 2001. — 285 с.
2. Гончаренко М.С. Определение уровня МДА в плазме крови и эритроцитах / М.С. Гончаренко, А.М. Латипова // Лаб. дело. — 1985. — № 1. — С. 60—61.
3. Лаптникова В.А. Определение циркулирующих в крови эритроцитарных агрегатов / В.А. Лаптникова, Л.М. Хараш // Лаб. дело. — 1982. — № 7. — С. 389—391.
4. Метельская В.А. Скрининг — метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. — 2005. — № 6. — С. 15—17.
5. Самсонова Н.Н., Плющ М.Г., Климович Л.Г. Система гемостаза и реология крови у больных ИБС кардиохирургического профиля, методы диагностики и контроля: Методические рекомендации / Под редакцией академика РАМН Л.А. Боке-рия. — М.: Изд-во НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2005. — 32 с.