

УДК: [616-005.1-08:616.12-008.331.1]:615.22

Цитоархитектоника эритроцитов и тромбоцитов у больных артериальной гипертонией с дислипидемией

Медведев И.Н., Скорятин И.А.

Курский институт социального образования (филиал) ФГБОУ ВПО «Российский государственный социальный университет», 305029, г.Курск, ул. К. Маркса, 53. Тел. (4712) 58-48-08. Факс (4712) 58-47-08. E-mail: ilmedv1@yandex.ru

Цель работы — установить особенности цитоархитектоники эритроцитов и тромбоцитов у больных артериальной гипертонией с дислипидемией. Под наблюдением находились 380 больных артериальной гипертонией 1–2 степени, риск 4 с дислипидемией IIb типа, среднего возраста. Группа контроля представлена 26 здоровыми добровольцами аналогичного возраста. У пациентов с сочетанием артериальной гипертонии с дислипидемией отмечается ослабление антиоксидантной защиты плазмы и цитоплазмы эритроцитов и тромбоцитов с активацией в них процессов перекисного окисления липидов, приводящих к альтерации их мембранных структур снаружи и изнутри. У больных артериальной гипертонией с дислипидемией выявлено усиление цитоархитектонических изменений эритроцитов и тромбоцитов. В основе найденных нарушений лежат негативные сдвиги в липидном обмене, активация перекисного окисления липидов плазмы крови и мембран форменных элементов крови, их рецепторные и цитоплазматические изменения.

Ключевые слова: артериальная гипертония, дислипидемия, эритроциты, тромбоциты, цитоархитектоника

Введение

Течение артериальной гипертонии (АГ) характеризуется большим числом осложнений, в основе которых лежат тромботические проявления, ведущие к утрате работоспособности, инвалидизации и ранней смерти [3]. Их риск резко повышается в случае присоединения к АГ дислипидемии (Д) [4].

В генезе тромбофилий у больных с АГ большую роль может играть изменение свойств клеток крови, в т.ч. выраженность изменений поверхностной геометрии эритроцитов и тромбоцитов, во многом определяющих реологию крови и уровень внутрисосудистого агрегатообразования [8,9]. В связи с этим состояние цитоархитектоники эритроцитов и тромбоцитов у больных АГ с Д в клиническом плане весьма важно, однако, несмотря на это, оно остается исследовано весьма недостаточно.

Целью работы являлось установление особенностей цитоархитектоники эритроцитов и тромбоцитов у больных АГ с Д.

Объект исследования и методы

Обследовано 380 больных АГ 1–2 степени, риск 4 (критерии ДАГ 3 (2008) с дислипидемией IIb типа, среднего возраста ($53,4 \pm 1,9$ года). Контроль представлен 26 здоровыми людьми аналогичного возраста.

У всех наблюдаемых энзиматическим колориметрическим методом определялось содержание в крови общего холестерина (ОХС) и триглицеридов (ТГ) с применением набора «Витал Диагностикум» и уровень ХС липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) с применением набора «Ольвекс Диагностикум». Количество общих фосфолипидов (ОФЛ) плазмы крови регистрировали по содержанию в них фосфора [5]. Уровни ХС липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) определяли расчетным путем по Фридвальду В. Концентрацию ХС липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) определяли по

формуле: содержание ТГ/2,2. Полученные показатели ОХС и ХС ЛПНП рассматривали как нормальные, пограничные или высокие в соответствии с Российскими рекомендациями (2012) [4].

Выраженность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме оценивалась по содержанию тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором «Агат-Мед» и ацилгидроперекисей (АГП) [2]. Антиокислительные возможности жидкой части крови определялись по величине ее антиокислительной активности (АОА) [1].

Уровень ПОЛ в форменных элементах крови определяли по количеству малонового диальдегида (МДА) в реакции восстановления тиобарбитуровой кислоты в отмытых и ресуспендированных клетках [6] и содержанию в них АГП [2]. В отмытых и ресуспендированных форменных элементах крови определяли уровни ХС и ОФЛ [5].

Количественная оценка содержания и соотношения патологических и нормальных форм эритроцитов проводилась с использованием световой фазово-контрастной микроскопии клеток. Производился расчет индекса трансформации (ИТ), индекса обратимой трансформации (ИОТ), индекса необратимой трансформации (ИНОТ), индекса обратимости (ИО) [7].

Морфологически внутрисосудистая активность тромбоцитов (ВАТ) определялась визуально с использованием фазовоконтрастного микроскопа [10] по Шитиковой А.С. с соавторами (1997). Статистическая обработка результатов велась t-критерием Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

В крови пациентов отмечено повышение уровней ОЛ и ОХС, превышающих значения контроля в 1,6 и 1,3 раза соответственно при одновременном понижении ОФЛ плазмы в 2,3 раза (табл. 1). Кроме того, в крови лиц АГ и Д найдено увеличение ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП и ТГ в 1,72, 1,67

и 1,66 раза соответственно, сочетающееся с понижением ХС ЛПВП в 1,55 раза. У пациентов отмечено подавление АОА плазмы в 1,38 раза, сопровождающееся выраженной активацией ПОЛ плазмы, судя по содержанию в ней АГП, которое превышало контроль в 2,25 раза, ТБК-активных продуктов — в 1,45 раза (табл. 1).

У наблюдаемых пациентов отмечено достоверное увеличение ХС в мембранах эритроцитов и тромбоцитов, сочетающееся с уменьшением в них ОФЛ и активацией ПОЛ за счет ослабления антиоксидантной защиты учитываемых клеток крови (табл. 1).

Содержание ХС и ОФЛ в мембранах красных кровяных телец также отличалось от контроля, составляя $1,30 \pm 0,013$ мкмоль/ 10^{12} эр., $0,57 \pm 0,021$ мкмоль/ 10^{12} эр. соответственно, обусловив повышение в них градиента ХС/ОФЛ. При этом в тромбоцитах больных выявлено увеличение уровня ХС ($0,92 \pm 0,006$ мкмоль/ 10^9 тр.) и понижение ОФЛ ($0,37 \pm 0,004$ мкмоль/ 10^9 тр.), обеспечившие рост в них градиента ХС/ОФЛ ($2,48 \pm 0,009$).

Активность каталазы и СОД эритроцитов у пациентов оказалась понижена, что способствовало увеличению содержания в них АГП и МДА до $4,48 \pm 0,10$ Д₂₃₃/ 10^{12} эр., $1,66 \pm 0,08$ нмоль/ 10^{12} эр. соответственно. Это сопровождалось у больных ослаблением антиоксидантной активности тромбоцитов (активность каталазы — $5900,0 \pm 11,7$ МЕ/ 10^9 тр.), СОД — $1020,0 \pm 2,2$ МЕ/ 10^9 тр.), способствующей повышению внутритромбоцитарного ПОЛ: содержание АГП в тром-

боцитах — $2,75 \pm 0,08$ Д₂₃₃/ 10^9 тр., МДА — $1,21 \pm 0,004$ нмоль/ 10^9 тр.

В крови больных АГ с дислипидемией выявлено понижение содержания дискоидных эритроцитов (табл. 2) до $68,3 \pm 0,25\%$. При этом, выявлялось повышение суммарного количества обратимо и необратимо измененных форм эритроцитов. В результате этого ИТ оказался значимо повышен, достигая $0,26 \pm 0,020$. За счет зарегистрированного увеличения в крови пациентов уровня обратимо измененных эритроцитов у них оказался возможен рост ИОТ ($0,40 \pm 0,012$). Высокое содержание в крови количества необратимо измененных эритроцитов обеспечило у больных превышение ИНОТ уровня контроля. В то же время вследствие увеличения числа обратимо измененных эритроцитов и необратимо измененных их разновидностей зарегистрировано понижение ИО до $1,70 \pm 0,12\%$.

Нарушения учитываемых показателей в тромбоцитах больных сопровождались усилением у них ВАТ (табл. 2). Так, в частности в кровотоке у наблюдаемых пациентов отмечено понижение количества дискоидных форм кровяных пластинок и повышение числа активированных тромбоцитов ($38,5 \pm 0,15\%$) за счет увеличения всех их разновидностей (диско-эхиноцитов, сфероцитов, сферо-эхиноцитов и биполярных форм). Нарастание количества свободно циркулирующих в крови малых тромбоцитарных агрегатов до $10,2 \pm 0,16$ на 100 свободнолежащих тромбоцитов, средних и больших агрегатов до $3,0 \pm 0,12$ на 100 свободнолежащих тромбоцитов, сочеталось с нара-

Таблица 1

Липидный состав, ПОЛ и антиоксидантная защита плазмы и клеток крови у больных артериальной гипертензией с дислипидемией

Параметры	Больные АГ с Д, n = 380, М ± m	Контроль, n = 26, М ± m
Плазма		
ОХС, ммоль/л	$6,4 \pm 0,04$	$4,8 \pm 0,05^*$
ХС ЛПВП, ммоль/л	$1,06 \pm 0,04$	$1,60 \pm 0,06^*$
ХС ЛПНП, ммоль/л	$4,04 \pm 0,06$	$2,43 \pm 0,04^*$
ХС ЛПОНП, ммоль/л	$1,03 \pm 0,05$	$0,77 \pm 0,05^*$
ТГ, ммоль/л	$2,86 \pm 0,05$	$1,70 \pm 0,02^*$
ОФЛ, ммоль/л	$1,53 \pm 0,05$	$3,54 \pm 0,09^*$
АГП плазмы, Д ₂₃₃ /1 мл	$3,23 \pm 0,08$	$1,42 \pm 0,09^*$
ТБК плазмы, мкмоль/л	$5,17 \pm 0,09$	$3,56 \pm 0,07^*$
Антиокислительный потенциал плазмы, %	$22,8 \pm 0,17$	$32,9 \pm 0,12^*$
Эритроциты		
ХС эритроцитов, мкмоль/ 10^{12} эр.	$1,33 \pm 0,006$	$1,04 \pm 0,004^*$
ОФЛ эритроцитов, мкмоль/ 10^{12} эр.	$0,55 \pm 0,005$	$0,75 \pm 0,003^*$
АГП эритроцитов, Д ₂₃₃ / 10^{12} эр.	$4,53 \pm 0,13$	$3,08 \pm 0,10^*$
МДА эритроцитов, нмоль/ 10^{12} эр.	$1,66 \pm 0,12$	$1,14 \pm 0,05^*$
Каталаза эритроцитов, МЕ/ 10^{12} эр.	$7490,2 \pm 12,4$	$11196,0 \pm 22,4^*$
СОД эритроцитов, МЕ/ 10^{12} эр.	$1576,9 \pm 2,32$	$1986,0 \pm 7,01^*$
Тромбоциты		
ХС тромбоцитов, мкмоль/ 10^9 тр.	$1,03 \pm 0,005$	$0,67 \pm 0,005^*$
ОФЛ тромбоцитов, мкмоль/ 10^9 тр.	$0,33 \pm 0,004$	$0,49 \pm 0,004^*$
АГП тромбоцитов, Д ₂₃₃ / 10^9 тр.	$3,25 \pm 0,05$	$2,20 \pm 0,04^*$
МДА тромбоцитов, нмоль/ 10^9 тр.	$1,32 \pm 0,06$	$0,68 \pm 0,02^*$
Каталаза тромбоцитов, МЕ/ 10^9 тр.	$5069,0 \pm 16,93$	$9790,0 \pm 20,10^*$
СОД тромбоцитов, МЕ/ 10^9 тр.	$1101,9 \pm 7,29$	$1650,0 \pm 3,00^*$

Примечание. * — $p < 0,01$. В табл. 2 обозначения аналогичные.

**Характеристика поверхностных свойств эритроцитов и тромбоцитов
у больных артериальной гипертензией с дислипидемией**

Параметры	Больные АГ с Д, n = 380, M ± m	Контроль, n = 26, M ± m
Цитоархитектоника эритроцитов		
Дискоциты, %	69,0 ± 0,18	82,2 ± 0,27*
Обратимо изм. эритроциты, %	18,0 ± 0,19	11,4 ± 0,20*
Необратимо изм. эритроциты, %	13,0 ± 0,17	6,4 ± 0,12*
Индекс трансформации	0,45 ± 0,016	0,22 ± 0,011*
Индекс обратимой трансформации	0,26 ± 0,010	0,14 ± 0,010*
Индекс необратимой трансформации	0,19 ± 0,007	0,08 ± 0,001*
Индекс обратимости	1,38 ± 0,008	1,78 ± 0,004*
Внутрисосудистая активность тромбоцитов		
Дискоциты, %	52,1 ± 0,15	84,6 ± 0,14*
Диско-эхиноциты, %	30,4 ± 0,15	11,2 ± 0,17*
Сфероциты, %	12,9 ± 0,13	2,2 ± 0,05*
Сферо-эхиноциты, %	3,3 ± 0,08	1,6 ± 0,05*
Биполярные формы, %	1,3 ± 0,06	0,4 ± 0,02*
Сумма активных форм, %	47,9 ± 0,15	15,4 ± 0,16*
Число тромбоцитов в агрегатах, %	11,1 ± 0,10	6,5 ± 0,07*
Число малых агрегатов по 2-3 тромб.	12,5 ± 0,12	3,1 ± 0,03*
Число средних и больших агрегатов, по 4 и более тромб.	4,27 ± 0,10	0,14 ± 0,03*

станием числа тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты ($9,9 \pm 0,06\%$).

Нарастание атерогенного холестерина в крови у больных АГ с Д и имеющиеся у них гемодинамические нарушения приводят к ослаблению АОА с активацией ПОЛ в жидкой части крови. Продукты ПОЛ оказывают дестабилизирующее воздействие на структурно-функциональное состояние эритроцитов, способствуя модификации их мембран. Структурные изменения мембран эритроцитов обуславливают угнетение в них антиоксидантных ферментов и дополнительное накопление продуктов ПОЛ. Перегруженность мембран красных кровяных телец ХС и активация процессов перекисидации неизбежно ведут к ухудшению их реологических и функциональных свойств [7], во многом за счет наблюдаемого повышения содержания обратимо и необратимо измененных форм эритроцитов на фоне снижения дискоцитов. Возникающие у больных ухудшения реологических свойств крови создают условия для развития у них расстройств микроциркуляции, увеличивая тем самым риск сердечно-сосудистых катастроф [6, 8].

Отмеченное у пациентов усиление нарушений цитоархитектоники эритроцитов ведет к мембранным перестройкам с маскированием в их наружной мембране части белков. Кроме того, понижение в плазме и клетках крови больных контроля над генерацией активных форм кислорода ведет к оксидативному повреждению трансмембранных белков эритроцитов и внутриклеточных протеинов, способствуя нарушению формы красных кровяных телец. Это отягощается развивающимся дисбалансом в эритроцитах активности аденилатциклазы и фосфодиэстеразы, приводящим к понижению в их цитоплазме количества циклического АМФ и повышению Ca^{2+} [9].

Повышение уровня ХС в крови сопровождается увеличением содержания ХС в мембранах кровяных пластинок, стимулирующим в них ПОЛ за счет депрессии антиоксидантной системы.

Неизбежным следствием высокого содержания активных форм тромбоцитов в крови больных явился рост в кровотоке числа циркулирующих агрегатов различных размеров. Свободно перемещающиеся по сосудам агрегаты повреждают эндотелиоциты, обнажая субэндотелиальные структуры, в том числе волокна коллагена [7]. Развивающийся комплекс патологических проявлений облигатно активирует первичный гемостаз, тем самым повышая вероятность тромботических осложнений. Кроме того, циркулирующие агрегаты способны блокировать vasa vasorum, что в сочетании с реологическими и барометрическими изменениями кровотока больных АГ с Д может вести к прогрессированию явлений атеросклероза [8].

Так, высокая ВАТ косвенно указала на доступность у больных коллагена субэндотелия сосудистой стенки в результате повреждения эндотелия активированными пластинками и их агрегатами на фоне повышения в крови растворенных индукторов агрегации (тромбина, АДФ, адреналина) [10]. Вероятно, дислипидемия ведет к химическим, а АГ к механическим микротравмам сосудистых стенок, что запускает процессы усиления ВАТ при АГ с Д.

Таким образом, для больных АГ с Д характерно усиление выраженности цитоархитектонических изменений эритроцитов и тромбоцитов.

Выводы

1. У пациентов с сочетанием АГ с Д отмечается ослабление антиоксидантной защиты плазмы и цитоплазмы эритроцитов и тромбоцитов с активацией в них процессов ПОЛ, приводящих к альтерации их мембранных структур снаружи и изнутри.

2. В крови больных АГ и Д регистрируется выраженное усиление изменений цитоархитектоники эритроцитов и тромбоцитов, ухудшающее реологические свойства крови.

Список литературы

1. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. — Челябинск, 2000. — 167 с.
2. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело. — 1983. — №3. — С. 33–36.
3. Диагностика и лечение артериальной гипертонии. Рекомендации Российского медицинского общества по артериальной гипертонии и Всероссийского научного общества кардиологов (третий пересмотр) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2008 — №6 (Приложение 2). — 32 с.
4. Диагностика и коррекция нарушений липидного обмена с целью профилактики и лечения атеросклероза Российские рекомендации (V пересмотр). Разработаны Комитетом экспертов РКО, НОУ и РосОКР // Российский кардиологический журнал. — 2012. — №4 (Приложение 1). — 32 с.
5. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. — Минск: Беларусь, 1982. — 367 с.
6. Кубатиев А.А., Андреев С.В. Перекиси липидов и тромбоз // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1979. — №5. — С. 414–417.
7. Медведев И.Н., Завалишина С.Ю., Краснова Е.Г. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях // Российский кардиологический журнал. — 2009. — №5. — С. 42–45.
8. Медведев И.Н., Скорятин И.А. Внутрисосудистая активность тромбоцитов у больных артериальной гипертонией с дислипидемией на фоне флувастатина // Вестник РУДН, серия «Медицина». — 2010. — №1. — С. 81–87.
9. Медведев И.Н., Скорятин И.А. Реологические свойства эритроцитов у больных артериальной гипертонией с дислипидемией на фоне симвастатина // Вестник РУДН, серия «Медицина». — 2012. — №1. — С. 37–42.
10. — Шитикова А.С., Тарковская Л.Р., Каргин В.Д. Метод определения внутрисосудистой активации тромбоцитов и его значение в клинической практике // Клиническая и лабораторная диагностика. — 1997. — №2. — С. 23–35.

Поступила 15.01.2013

Cytoarchitecture of red blood cells and platelets in patients with arterial hypertension with dyslipidemia

Medvedev I.N., Skorjatina I.A.

Kursk Institute of Social Education (branch of) Russian State Social University,
305029, Kursk, st.K.Marxs, 53. Phone (4712) 58-48-08, fax (4712) 58-47-08. E-mail: ilmedv1@yandex.ru

The aim of this study was to establish the characteristics of cellular composition of erythrocytes and platelets in patients with arterial hypertension with dyslipidemia. Under the supervision of patients with arterial hypertension were 380 1-2 degree, risk II b 4 types of dyslipidemic patients, average age. The monitoring group presented 26 healthy volunteers of a similar age. In patients with a combination of arterial hypertension with dyslipidemia is weakening and plasma antioxidant of cytoplasm of erythrocytes and platelets activation of lipid peroxidation, resulting in the alteration of their membrane structures inside and out. In patients with arterial hypertension with dyslipidemia revealed increased cytoarchitecture changes of erythrocytes and platelets. At the basis of violations found are negative shifts in the lipid metabolism, lipid peroxidation, activation of the plasma membrane and the uniform of the blood, its receptor and cytoplasmic changes.

Key words: arterial hypertension, dyslipidemia, erythrocytes, platelets, cytoarchitecture