

## ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОК КРОВИ В БАСЕЙНАХ ИШЕМИЗИРОВАННЫХ КОНЕЧНОСТЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ БОЛЬНЫХ ОБЛИТЕРИРУЮЩИМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

И.И. Кательницкий<sup>1</sup>, С.А. Плескачев<sup>1</sup>, М.А. Буриков<sup>1</sup>, А.С. Мационис<sup>2</sup>, П.Э. Повилайтите<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клиническая больница № 1

ФГУ «Южный окружной медицинский центр ФМБА России»

<sup>2</sup>Ростовское областное патолого-анатомическое бюро, Ростов-на-Дону

Целью работы было изучение морфологического состояния форменных элементов крови в бассейнах ишемизированных конечностей и их динамики в результате выполнения различных видов оперативного лечения.

Выполнение сочетанного оперативного лечение оказывает более выраженный нормализующий эффект по сравнению с изолированными реконструктивными операциями. Применение поясничной симпатэктомии для лечения больных с окклюзионными поражениями артерий нижних конечностей и различной степенью ишемии приводит к снижению эндотелиальной дисфункции и нормализации целого ряда параметров, характеризующих морфологию и функционирование основных форменных элементов крови – эритроцитов и тромбоцитов. Установлено снижение деформации эритроцитов, что свидетельствует о восстановлении пластичности эритроцитарных мембран, существенно снижается степень агглютинации красных кровяных телец. По полученным данным, влияние симпатэктомии зависит от тяжести заболевания, и в целом наибольшая эффективность отмечается при II и III степени ишемии.

*Ключевые слова:* эндотелин-1, морфофункциональное состояние клеток, медикаментозное лечение больных облитерирующим атеросклерозом.

### ENDOTHELIAL FUNCTION AND MORPHOFUNCTIONAL STATE OF BLOOD CELLS IN THE BASINS OF THE ISCHEMIC LIMBS IN THE DIFFERENT TYPES OF SURGICAL TREATMENT OF ATHEROSCLEROSIS OBLITERANS

Katelnitsky I.I., Pleskachev S.A., Burikov M.A., Matsionis A.S., Povilaytite P.E.

The aim of the investigation was to study the morphological condition of blood cells in the basins of the ischemic limbs and their dynamics as a result of various types of surgical treatment.

Implementation of combined surgical treatment has a more normalizing effect in comparison with isolated reconstructive surgical treatment.

The use of lumbar sympathectomy in patients with occlusive lesions of arteries of lower limbs and varying degrees of ischemia reduces endothelial dysfunction and normalizes a number of parameters describing the morphology and functioning of red blood cells and platelets.

There was detected the deformation of red blood cells indicating that the restoration of the plasticity of red blood cell membranes significantly reduced the degree of agglutination of red blood cells.

According to obtained data the influence of sympathectomy depends on the severity of the disease in general the highest efficiency is observed at the II and III degree of ischemia.

*Keywords:* endothelin-1, the morphology and function of cells, treatment of patients with atherosclerosis obliterans.

**Введение.** Изучение роли эндотелия в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний, и в частности хронических облитерирующих заболеваний артерий нижних конечностей, привело к пониманию, что эндотелий регулирует не

только периферический кровоток, но и другие важные функции [1, 2, 4, 8]. Именно поэтому объединяющей стала концепция об эндотелии как о мишени для профилактики и лечения патологических процессов. Дисфункция эндоте-

лия, прогрессирующая при развитии окклюзионных поражений артерий нижних конечностей – это, прежде всего, дисбаланс между продукцией, с одной стороны, вазодилатирующих, ангиопротективных, антипролиферативных факторов (NO, простаглицлины, тканевой активатор плазминогена, эндотелиального гиперполяризирующего фактора) и с другой стороны - вазоконстриктивных, протромботических, пролиферативных факторов (эндотелин, супероксид-анион, тромбоксан А2, ингибитор тканевого активатора плазминогена) [5, 10, 13].

Наряду с эндотелиальной дисфункцией определенную роль в формировании хронических облитерирующих заболеваний сосудов с последующей ишемией нижних конечностей играет нарушение функционирования основных форменных элементов крови – эритроцитов и особенно тромбоцитов [3, 6, 9]. С другой стороны, благодаря повышенной лабильности именно тромбоциты и эритроциты первыми реагируют своей морфофункциональной нормализацией на улучшение условий кровотока, в том числе связанное с оперативным воздействием [11, 12].

**Целью работы** было изучение морфологического состояния форменных элементов крови в бассейнах ишемизированных конечностей и их динамики в результате выполнения различных видов оперативного лечения.

#### Материалы и методы

Проанализированы результаты клинических наблюдений 115 больных с атеросклеротическими окклюзиями артерий нижних конечностей, разделенных на две группы. Первую группу составили 66 пациентов, которым проводили реконструктивные операции на артериях нижних конечностей, вторую группу – 49 пациентов, которым реконструктивную операцию дополняли поясничной симпатэктомией. По возрасту, степени ишемических изменений больные обеих групп были сопоставимы.

Для изучения состояния функции эндотелия у больных определяли уровень концентрации эндотелина-1 в плазме крови, отекающей из ишемизированной зоны, контролем служили показатели эндотелина-1 в венозной крови, взятой из кубитальных вен и бедренной вены здоровой нижней конечности. Исследование концентрации эндотелина-1 проводили на иммуноферментном планшетном фотометре «Эфос - 9305» (Россия) с использованием тест-системы (иммуноферментного набора для количественного определения эндотелина в биологических жидкостях) фирмы BIOMEDICA

Gmbh (Австрия), норма составила 0,8-1,1 фмоль/мл.

С целью изучения морфофункционального состояния клеток у 60 больных проведено морфологическое исследование форменных элементов крови до и после лечения. Результаты исследований обработаны на персональном компьютере IBM PC/AT при помощи стандартного пакета программ Microsoft Excel-2000, программы для обработки статистических материалов "БИОСТАТ". Статистическую обработку морфологических данных проводили по t-критерию Стьюдента.

#### Результаты и их обсуждение

Изучение ультраструктуры эритроцитов и тромбоцитов пациентов со II Б степенью ишемии показало, что у большинства больных этой группы отмечается заметная активация тромбоцитарного звена. Кровяные пластинки имеют различные размеры, их поверхность неровная, с многочисленными выростами. Эритроциты-дискоциты также деформированы, практически не наблюдается гладких дисков. Многие тромбоциты адгезированы к поверхности эритроцитов. Сами эритроциты формируют микроконгломераты, дисковидная форма нарушена, имеется эхиноцитарная и стоматоцитарная деформация I-II степени (мишеневидные клетки, стоматоциты, овалоциты) (рис. 1).

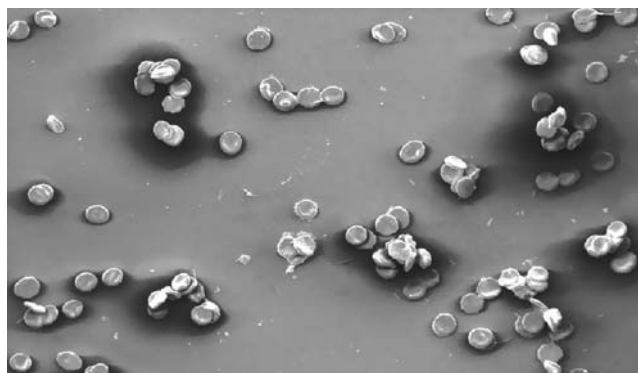


Рис. 1. Конгломераты из эритроцитов в крови больного с облитерирующим атеросклерозом до начала лечения ×502 раза

Встречаются конгломераты из лейкоцитов и эритроцитов, а также единичные довольно крупные микротромбы, состоящие только из эритроцитов, что соответствует значительному усилению агглютинации клеток, возможно, в связи с изменениями свойств наружной мембраны (рис. 2).

В то же время на отдельных полях зрения эритроциты имеют форму обычных дискоцитов, и активация тромбоцитов не так заметна.

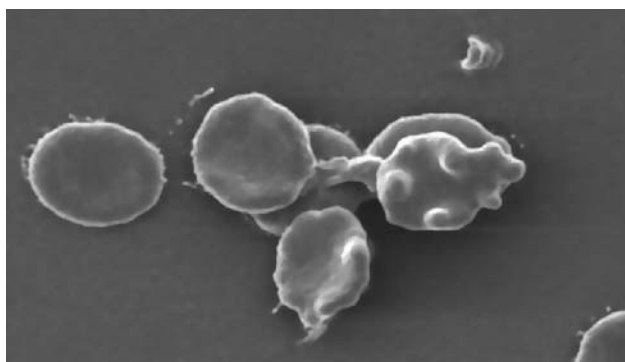


Рис. 2. Эритроциты, имеющие признаки эхиноцитарной трансформации в крови больного облитерирующим атеросклерозом до лечения  $\times 2705$

Вместе с тем изменения формы эритроцитов нельзя назвать выраженными, описанные сдвиги обратимы. Кроме того, установлена активация тромбоцитов, в целом ультраструктура эритроцитов и тромбоцитов свидетельствует о наличии альтераций клеточных компонентов крови, которые способствуют микротромбообразованию и нарушению реологических свойств крови уже при II Б степени ишемии. Показатели эндотелина-1 составили  $1,73 \pm 0,11$  фмоль/мл (табл. 1).

При III степени ишемии выявлены заметно более значительные изменения. На малом увеличении обнаруживалась более выраженная

Таблица 1

**Динамика показателей эндотелина-1 (фмоль/мл) у больных с различными степенями ишемии нижних конечностей в процессе лечения**

Степень ишемии	I группа Реконструктивные операции		II группа Сочетанное оперативное лечение	
	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
II	$1,73 \pm 0,11$	$1,14 \pm 0,18$	$1,75 \pm 0,13$	$0,94 \pm 0,17$
III	$1,88 \pm 0,21$	$1,28 \pm 0,21$	$1,86 \pm 0,32$	$1,03 \pm 0,24$
IV	$2,54 \pm 0,41$	$1,95 \pm 0,34$	$2,51 \pm 0,47$	$1,25 \pm 0,31$

активация тромбоцитов, их фиксация к поверхности эритроцитов. Кроме многочисленных активированных тромбоцитов, присутствующих на всех полях зрения, отмечается более существенная агглютинация эритроцитов. Если при степени ишемии II Б в основном отмечались мелкие конгломераты из эритроцитов, то при ишемии III степени крупные эритроцитарные конгломераты встречались значительно чаще. При больших увеличениях очевидно, что агглютинация эритроцитов приводит к формированию так называемых «монетных столбиков» или к сладж-синдрому (рис. 3).



Рис. 3. "Монетный столбик" из эритроцитов, кровь больного облитерирующим атеросклерозом до лечения  $\times 2705$

При этом в отличие от больных со степенью ишемии II Б в составе эритроцитарных конгломератов нередко присутствуют активированные тромбоциты, то есть происходит образование смешанных внутрисосудистых микротромбов. Наличие монетных столбиков (сладж-синдрома) свидетельствует о значительном нарушении реологии крови. Следовательно, при III степени ишемии отмечается значительно более выраженная активация тромбоцитарного звена гемостаза. Показатели эндотелина-1 при этой степени составили  $1,86 \pm 0,47$  фмоль/мл.

Еще более выраженные альтерации выявляются при анализе ультраструктуры форменных элементов крови больных с IV степенью ишемии. На малых увеличениях все эритроциты деформированы, образуют конгломераты между собой или с активированными тромбоцитами. Заметно более существенна у больных этой группы деформация эритроцитов: кроме многочисленных эхиноцитов I-II порядка нередкой находкой являются «клетки-репы» – эхиноциты III порядка. Кроме эритроцитарных конгломератов и смешанных микротромбов,

появляются «белые» тромбы, образующиеся за счет слипания тромбоцитов и лимфоцитов или лейкоцитов. Помимо признаков резкой активации тромбоцитов в виде их агрегации, деформации, образования отростков, у больных этой группы отмечается появление в составе микроконгломератов не только отростчатых активированных тромбоцитов, но и нитей и пучков полимеризованного фибрина, которые фиксируют форменные элементы крови. Фибриновые нити образуют своеобразную сеть, в которой застревают многочисленные эритроциты, что, безусловно, значительно ухудшает условия кровотока и свидетельствует о тяжелом дисбалансе свертывающей и противосвертывающей систем у пациентов этой группы (рис. 4). Показатели эндотелина-1 при этом достигали  $2,47 \pm 0,32$  фмоль/мл.

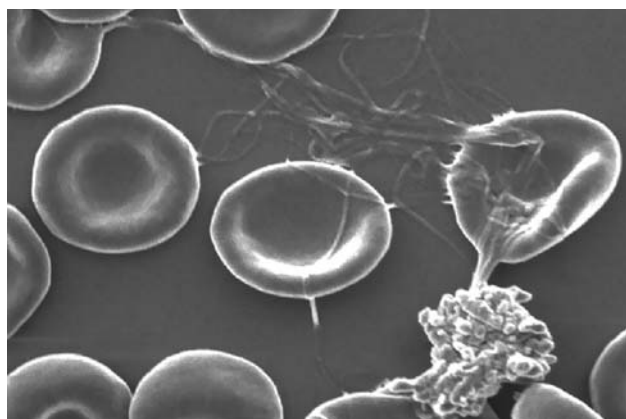


Рис. 4. Эритроциты, опутанные фибриновыми нитями у больных с IV клинической степенью ишемии  $\times 2705$  раза

Проведенные реконструктивные операции у пациентов первой группы приводили к снижению показателей эндотелина-1 в крови, оттекающей из зоны ишемии. При этом у пациентов с исходной II Б степенью ишемии значения эндотелина-1 уменьшались на  $0,59 \pm 0,30$  фмоль/мл, при III степени – на  $0,60 \pm 0,18$  фмоль/мл. При IV степени отмечалось менее выраженное снижение значений (на  $0,59 \pm 0,27$ ) и концентрация эндотелина-1 оставалась значительно выше нормы ( $1,95 \pm 0,36$  фмоль/мл). В группе больных с сочетанным оперативным лечением отмечали снижение показателей эндотелина-1 у пациентов со II степенью ишемии на  $0,81 \pm 0,29$ , то есть достигали показателей нормы (табл. 1).

Анализ ультраструктуры эритроцитов и тромбоцитов больных с II Б степенью ишемии у пациентов второй группы позволил установить заметную нормализацию строения исследуемых форменных элементов крови при хорошем клиническом эффекте. Эритроциты на

большинстве полей зрения расположены свободно, что свидетельствует о сохранности компонентов эритроцитарных мембран, включая их заряд (рис. 5).

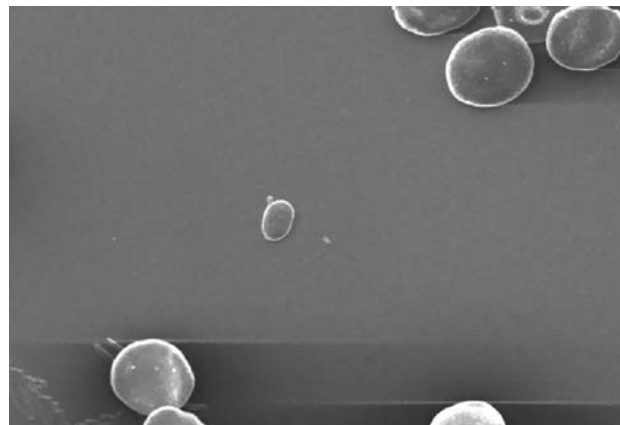


Рис. 5. Гладкий тромбоцит правильной формы у больного с III степенью ишемии после сочетанного оперативного лечения  $\times 2705$  раза

Слипание эритроцитов регистрируется значительно реже, деформированные клетки единичны, количество тромбоцитов несколько увеличено, однако их активация в виде появления отростчатых форм минимальна.

Изолированное оперативное лечение у больных с ишемией III степени приводило к снижению эндотелина-1 до  $1,28 \pm 0,21$  фмоль/мл, а сочетанное оперативное лечение уменьшало этот показатель до  $1,03 \pm 0,24$  фмоль/мл (табл. 1). При этом отмечалась существенная нормализация ультраструктурных альтераций исследуемых форменных элементов. Эритроциты имеют правильную форму, их агглютинация выражена незначительно, в кровотоке появляются неактивные формы тромбоцитов – гладкие пластинки (рис. 6). У большинства больных форма эритроцитов заметно нормализуется, но увеличение количества тромбоцитов по-прежнему заметно, хотя формирования отростков на тромбоцитах и не отмечается.

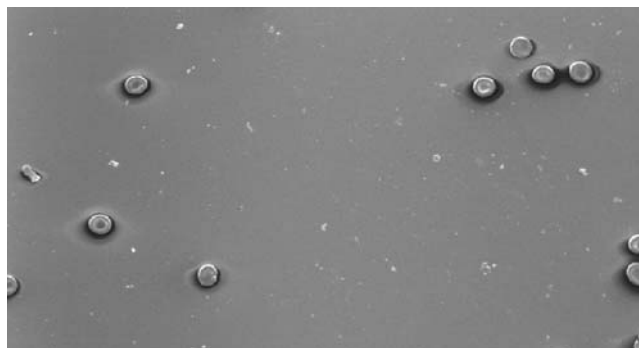


Рис. 6. Эритроциты-дискоциты больного после сочетанного оперативного лечения, отсутствие микроконгломератов  $\times 502$

При IV степени ишемии показатели эндотелина-1 после проведенного лечения у пациентов первой группы оставались повышенными, однако во второй группе отмечено более резкое снижение показателей с  $2,51 \pm 0,47$  до  $1,25 \pm 0,31$  фмоль/мл по сравнению с первой группой, где показатели уменьшились с  $2,54 \pm 0,41$  до  $1,95 \pm 0,34$  фмоль/мл. Таким образом, очевидно более выраженное нормализующее влияние сочетанного оперативного лечения на функциональное состояние эндотелия в ишемизированных конечностях. В крови больных этой группы обнаруживаются измененные форменные элементы крови, однако их число заметно уменьшается после дополнения реконструктивной операции поясничной симпатэктомией.

Кроме того, до лечения у больных наблюдалось значительное количество крупных тромбоцитов, что соответствует данным визуального анализа – наличию большого числа активированных крупных отростчатых форм кровяных пластинок. После лечения у пациентов второй группы большая часть тромбоцитов имеет средние размеры (около 80% тромбоцитов), число крупных тромбоцитов снижается. Площадь гранул в тромбоцитах достоверно снижается после лечения ПГЕ 1 с  $1,75$  до  $1,42$  квадратных микрона ( $p \leq 0,01$ ). При этом после лечения в крови больных преобладают тромбоциты с гранулами меньшей площади.

Анализ изменений площадей гранул в тромбоцитах у больных с разной степенью ишемии показывает, что достоверное уменьшение этого параметра имеет место при II Б и III степени и при IV степени ишемии влияния на этот параметр отсутствуют. Полученные результаты позволяют предположить, что при IV степени ишемии эффект поясничной симпатэктомии еще не развился, поскольку имеются признаки омоложения пула тромбоцитов у этих больных, и соответствующие ультраструктурные отличия, по-видимому, проявятся позже.

Проведенный рентгеноспектральный микроанализ состава тромбоцитарных фракций пациентов исследуемых групп показал, что у пациентов второй группы наблюдается достоверное и значительное увеличение содержания кислорода в тромбоцитах приблизительно на 5% ( $p \leq 0,001$ ), достоверно увеличивается содержание натрия, количество калия незначительно уменьшается, что свидетельствует о снижении активности работы  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ -аз. Наиболее существенны сдвиги в содержании кальция – уровень этого элемента заметно и высоко

достоверно снижен после лечения ( $p \leq 0,001$ ).

В эритроцитах, как и в тромбоцитах, после выполнения симпатэктомии достоверно увеличивается весовое содержание кислорода ( $p \leq 0,001$ ), незначительно уменьшается содержание натрия и магния в эритроцитах, что соответствует нормализующему влиянию на мембраны клеток. Достоверное и существенное увеличение этих параметров отмечается при III и IV степенях ишемии. У больных со степенью ишемии II Б достоверных отличий не наблюдается, возможно, в связи с минимальностью альтераций эритроцитов пациентов до лечения.

**Заключение.** Таким образом, у больных облитерирующим атеросклерозом нижних конечностей в крови ишемизированных бассейнов наблюдаются существенные нарушения функции эндотелия кровеносных сосудов, и наступают нарушения структуры и функции клеток крови, коррелирующие с выраженностью ишемических изменений. Выполнение сочетанного оперативного лечения оказывает более выраженный нормализующий эффект по сравнению с изолированными реконструктивными операциями. Применение поясничной симпатэктомии для лечения больных с окклюзионными поражениями артерий нижних конечностей и различной степенью ишемии приводит к снижению эндотелиальной дисфункции и нормализации целого ряда параметров, характеризующих морфологию и функционирование основных форменных элементов крови – эритроцитов и тромбоцитов. Установлено снижение деформации эритроцитов, что свидетельствует о восстановлении пластичности эритроцитарных мембран, существенно снижается степень агглютинации красных кровяных телец. Последний параметр свидетельствует о восстановлении наружного отрицательного заряда их мембран. При этом растет насыщение эритроцитов кислородом, что наряду с восстановлением реологических свойств способствует снижению уровня тканевой гипоксии. Не менее существенно влияние сочетанного оперативного лечения на тромбоциты – отмечена не только дезактивация, уменьшение адгезии, снижение деформации, но и нормализация функционирования тромбоцитов за счет сокращения их дегрануляции. По полученным данным, влияние симпатэктомии зависит от тяжести заболевания, и в целом наибольшая эффективность отмечается при II и III степени ишемии.

### Литература

1. Алмазов В.А., Гуревич В.С., Попов Ю.Г. и соавт. Структура и функция рецепторов тромбоцита человека // Гематология и трансфузиология. 1990. № 10. С. 25-29.
2. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов И.И., Тлепшуков И.К. Физиология системы гемостаза. М., 1995. 245 с.
3. Горбатенкова Е.А., Азизова О.А., Дубровин М.Ю. и соавт. Структурно-функциональные изменения тромбоцитов при экспериментальном атеросклерозе // Бюлл. exper. биол. мед. 1984. № 2. С. 149-152.
4. Мазур Э.М. Тромбоциты // В кн. Патопфизиология крови. Ф.Д. Шиффман. М., С.-Пб.: Бином, 2001. С. 149-281.
5. Покровский А.В., Москаленко Ю.Д., Кияшко В.А. Реконструктивные операции при тяжелой ишемии нижних конечностей // Хирургия. 1997. № 11. С. 20-27.
6. Сороковой В.И., Моченова Н.Н., Никитина Г.М. Ультраструктура эритроцитов при кальций-активированном старении *in vitro* // Бюлл. exper. биол. мед. 1994. № 5. С. 555-558.
7. Шиффман Ф.Дж. Патопфизиология крови. М.: Бином, 2001. 448 с.
8. Dominguez L.J., Barbagallo M., Sowers J.R., Resnick L.M. Magnesium responsiveness to insulin and insulin-like growth factor I in erythrocytes from normotensive and hypertensive subjects // J. Clin. Endocrinol. Metab 1998. Vol. 83 (12). P. 4402-4407.
9. Hadengue A.L., Del-Pino M., Simon A., Levenson J. Erythrocyte disaggregation shear stress, sialic acid, and cell aging in humans // Hypertension. 1998. Vol. 32 (2). P. 324-330.
10. Kosch M., Hausberg M., Westermann G. et al. Alterations in calcium and magnesium content of red cell membranes in patients with primary hypertension // Am. J. Hypertension. 2000. Vol. 14 (3). P. 254-258.
11. Lluch M.M., de la Sierra A., Poch E. et al. Erythrocyte sodium transport, intraplatelet pH, and calcium concentration in salt-sensitive hypertension // Hypertension. 1996. Vol. 27 (4). P. 919-925.
12. Lominadze D., Joshua I.G., Schuschke D.A. Increased erythrocyte aggregation in spontaneously hypertensive rats // Am. J. Hypertens. 1998. Vol. 11 (7). P. 784-789.
13. Russo C., Olivieri O., Girelli D. et al. Anti-oxidant status and lipid peroxidation in patients with essential hypertension // J. Hypertens. 1998. Vol. 16 (9). P. 1267-1271.
14. Thomas T.H., Rutherford P.A., Vareesangthip K. et al. Erythrocyte membrane thiol proteins associated with changes in the kinetics of Na/Li countertransport: a possible molecular explanation of changes in disease // Eur. J. Clin. Invest. 1998. Vol. 28 (4). P. 259-265.

#### Контактная информация:

Кательницкий Игорь Иванович – сердечно-сосудистый хирург отделения сосудистой хирургии  
КБ №1 ФГУ ЮОМЦ ФМБА России, к.м.н.  
Тел.: 8-918-5532091, e-mail: katelnizkji@mail.ru

Плескачев Сергей Александрович – главный врач КБ №1 ФГУ ЮОМЦ ФМБА России, к.м.н. Тел.: 8-903-4016851

Буриков Максим Алексеевич – заведующий хирургическим отделением КБ №1 ФГУ ЮОМЦ ФМБА России, к.м.н.  
Тел.: 8-918-5203004

Мационис Александр Эдуардович – директор Ростовского областного патолого-анатомического бюро, д.м.н.  
Тел.: 8(863)2220383

Повилайте Патриция Эдмундовна – заведующая лабораторией Ростовского областного патолого-анатомического бюро, д.м.н.  
Тел.: 8(863)2220383