

## ОЦЕНКА АГРЕГАЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ ОСНОВНЫХ ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТОНИЕЙ С ДИСЛИПИДЕМИЕЙ, ОТКАЗАВШИХСЯ ОТ ГИПОЛИПИДЕМИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Скорятин И.А., Медведев И.Н.

*Курский институт социального образования (филиал) Российского государственного социального университета, Курск, e-mail: ilmedv1@yandex.ru*

**Цель работы:** рассмотреть динамику агрегационных свойств форменных элементов крови у больных артериальной гипертонией с дислипидемией, сознательно отказавшихся от гипополипидемического воздействия. Под наблюдением находилось 34 пациента с артериальной гипертонией 1–2 степени, риск 3 и дислипидемией IIb типа, среднего возраста. Группа контроля представлена 26 здоровыми добровольцами аналогичного возраста. Все больные были информированы о необходимости проведения им гипополипидемического лечения и по причине собственных убеждений от него отказались. Гипотензивная терапия велась эналаприлом 10 мг 2 раза в сутки. Регистрация клинических и лабораторных показателей проводилась в начале наблюдения, через 6, 12, 18, 52 и 104 недели наблюдения. В результате динамической оценки учитываемых показателей у наблюдаемых пациентов с артериальной гипертонией и дислипидемией в течение 104 недель отмечена стабильность липидного профиля, уровня перекисного окисления липидов в плазме и форменных элементах крови, сохраняя данные показатели на уровне исхода. Отсутствие гипополипидемического лечения сохраняло у больных с артериальной гипертонией и дислипидемией высокие агрегационные возможности эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов в течение всех 104 недель наблюдения за счет сохранения нарушений механизмов их реализации.

**Ключевые слова:** артериальная гипертония, дислипидемия, агрегационная активность, форменные элементы крови, отказ от гипополипидемической терапии.

## EVALUATION AGGREGATION ACTIVITY MAIN BLOOD CORPUSCLES IN HYPERTENSIVE PATIENTS WITH DYSLIPIDEMIA, LIPID-LOWERING TREATMENT TO ABANDON

Skorjatina I.A., Medvedev I.N.

*Kursk Institute of social education, branch of the institute RSSU (Russian State Social University), Kursk, e-mail: ilmedv1@yandex.ru*

**Objective:** To examine the dynamics of the aggregation properties of blood cells in patients with arterial hypertension and dyslipidemia, deliberately refused to hypolipidemic effects. We observed 34 patients with arterial hypertension of 1-2 degrees, the risk 3 and IIb dyslipidemia type of middle age. The control group consisted 26 healthy volunteers of similar age. All patients were informed about the need for lipid-lowering treatment to them and because of their beliefs was abandoned. Antihypertensive therapy was conducted with enalapril 10 mg 2 times a day. Register clinical and laboratory parameters at the beginning of the observation carried out after 6, 12, 18, 52 and 104 weeks of observation. As a result, the dynamic evaluation accounted for the observed parameters in patients with arterial hypertension and dyslipidemia for 104 weeks marked by the stability of the lipid profile, the level of lipid peroxidation in plasma and blood cells while retaining these indicators at the outcome level. The absence of lipid-lowering treatment maintained in patients with hypertension and dyslipidemia high aggregation properties of erythrocytes, platelets and leukocytes during all the 104 weeks of observation due to violations of conservation mechanisms for their implementation.

**Keywords:** hypertension, dyslipidemia, aggregation activity of blood cells, non-lipid-lowering therapy.

Очень частая встречаемость в современном обществе сердечно-сосудистой патологии и колоссальная доля в ней артериальной гипертонии (АГ) стойко удерживает внимание к ней современной медицинской науки [10]. Ситуация усугубляется весьма частым сочетанием АГ с метаболическими нарушениями, среди которых дислипидемия (Д) занимает одно из

лидирующих мест [6,10]. Особая опасность сочетания АГ с Д связана с резким ускорением на ее фоне формирования целого ряда патологических процессов, значимо повышающих риск возникновения тромбозов, негативно сказывающихся на общем прогнозе.

Есть наблюдения, что наличие у больного АГ и Д неизбежно приводит к нарушениям функционально-структурных характеристик форменных элементов крови [10], что в конечном итоге негативно отражается на процессе микроциркуляции. Высокая концентрация атерогенного холестерина в крови этих больных, сопровождающаяся гемодинамическими нарушениями и депрессией антиоксидантной защиты организма ведет к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в их плазме [6]. Избыточное количество продуктов ПОЛ у любых биологических объектов и в любом возрасте дестабилизирует мембранно-рецепторные и пострецепторные структуры форменных элементов крови, негативно сказываясь на их функциональных параметрах [3,4,9]. Формирующиеся нарушения неизбежно усиливают агрегационные свойства всех клеток крови, что ухудшает ее реологические свойства, особенно в сосудах микроциркуляторного русла, и повышает риск тромбозов различной локализации [5,7]. Несмотря на доказанность значимой пользы в плане улучшения прогноза у больных АГ с Д от гиполипидемической диеты, дозированных физических нагрузок и длительного фармакологического воздействия с помощью статинов, далеко не все больные по разным соображениям готовы выполнять данные рекомендации. Представляет большой практический интерес развитие динамики агрегационных свойств клеток крови у этой категории больных, знание которой способно послужить основой для контроля результативности исследований по применению различных вариантов гиполипидемической терапии.

**Цель работы:** рассмотреть динамику агрегационных свойств форменных элементов крови у больных артериальной гипертонией с дислипидемией, сознательно отказавшихся от гиполипидемического воздействия.

### **Материалы и методы**

Исследования выполнены на 34 больных АГ 1-2 степени, риск 3 с дислипидемией Пб типа, среднего возраста. Группа контроля представлена 26 клинически здоровыми людьми аналогичного возраста.

Концентрации общего холестерина (ОХС) и триглицеридов (ТГ) в плазме обследованных были оценены энзиматическим колориметрическим методом с помощью набора „Витал Диагностикум”. ХС липопротеидов высокой плотности (ЛПВП) регистрировались при помощи набора „Ольвекс Диагностикум”. Количество общих липидов (ОЛ) выясняли с помощью набора „Эрба-Русс”. Содержание общих фосфолипидов (ОФЛ) в плазме определяли по содержанию в них фосфора, с последующим расчетом соотношения в

плазме ОХС/ОФЛ. Количество ХС липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) выявляли расчетным путем по общепринятой методике. Уровень ХС липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) определяли по формуле:  $TG/2,2$ . Коэффициент атерогенности рассчитывался по формуле  $ХС\ ЛПНП/ХС\ ЛПВП$ .

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в плазме оценивался по количеству в ней ацилгидроперекисей (АГП) и тиобарбитуровой кислоты (ТБК)-активных продуктов набором „Агат-Мед” с учетом ее антиокислительной активности (АОА) общепринятым методом.

Активность ПОЛ в форменных элементах крови определяли по количеству в них после отмытия и ресуспендирования малонового диальдегида (МДА) в реакции восстановления тиобарбитуровой кислоты и по содержанию АГП. В отмытых и ресуспендированных форменных элементах крови количественно оценены уровни холестерина энзиматическим колориметрическим методом набором „Витал Диагностикум” и ОФЛ по содержанию в них фосфора с последующим расчетом отношения ХС/ОФЛ. В клетках крови также выявлялась активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД).

Спонтанная агрегация эритроцитов оценивалась на световом микроскопе путем подсчета в камере Горяева количества агрегатов эритроцитов, числа агрегированных и неагрегированных эритроцитов.

Активность агрегации тромбоцитов (АТ) исследовалась визуальным микрометодом в ответ на применение АДФ ( $0,5 \times 10^{-4}$  М), коллагена (разведение 1:2 основной суспензии), тромбина (0,125ед/мл), ристомицина (0,8 мг/мл), адреналина ( $5,0 \times 10^{-6}$  М.) и перекиси водорода ( $7,3 \times 10^{-3}$  М) со стандартизированным количеством тромбоцитов в исследуемой плазме  $200 \times 10^9$  тр. Степень внутрисосудистого агрегатообразования тромбоцитов выяснялась при помощи фазово-контрастного микроскопа.

Выраженность агрегационных свойств нейтрофилов определяли на фотоэлектроколориметре в их суспензии, полученной после отмытия и ресуспендирования с лектином зародыша пшеницы 32 мкг/мл, конканавалином А 32 мкг/мл и фитогемагглютинином – 32 мкг/мл.

Все больные были информированы о наличии у них дислипидемии и о степени ее угрозы для здоровья, но по имеющимся у них убеждениям они отказались от любого гиполлипидемического лечения. Гипотензивная терапия велась эналаприлом 10мг 2 раза в сутки. Регистрация клинических и лабораторных показателей проводилась при взятии в исследование и через 6, 12, 18, 52 и 104 недели наблюдения. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась t-критерием Стьюдента ( $p < 0,05$ ).

### **Результаты исследования**

У наблюдаемых пациентов в исходе количество ОЛ и ОХ в крови были повышены по сравнению с контролем почти в 1,6 и 1,3 раза, соответственно, при уменьшении ОФЛ в их плазме почти в 2,3 раза. Это обеспечивало превалирование у больных величины отношения ОХС/ОФЛ в 3 раза по сравнению с контролем. Атерогенные фракции холестерина – ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП у наблюдавшихся больных также были достоверно повышены в 1,7 и 1,7 раз, соответственно. Это сопровождалось увеличением в их крови уровня ТГ в 1,7 раза, понижением ХС ЛПВП на 50 % и повышением коэффициента атерогенности плазмы в 2,5 раза.

В жидкой части крови у наблюдаемых лиц с АГ и Д отмечено превалирование количества АГП и ТБК-активных продуктов почти в 2,3 и 1,4 раза над значениями у лиц, составивших контрольную группу, вследствие ослабления у них величины антиоксидантного потенциала плазмы в 1,4 раза.

У обследованных больных в мембранах форменных элементов крови отмечено достоверное увеличение ХС, сопровождающееся уменьшением ОФЛ и нарастанием в них градиента ХС/ОФЛ (в эритроцитах на 75,5 %, в тромбоцитах в 2,2 раза, в нейтрофилах на 85,1 %). При этом во всех учитываемых форменных элементах крови у лиц с АГ и Д выявлена активация ПОЛ в результате ослабления их антиоксидантной защиты.

При этом у больных зарегистрировано достоверное усиление агрегации эритроцитов с повышением в крови уровня суммарного вовлечения эритроцитов в агрегаты (на 63,9 %), увеличением количества самих агрегатов (на 47,8 %) и уменьшением на 53,2 % содержания в ней свободно перемещающихся эритроцитов.

В исходе у больных найдено выраженное сокращение времени развития АТ с отдельными индукторами и их комбинациями. Наиболее рано АТ возникала под действием коллагена (ускорена на 44,3 %). Чуть позже она развивалась в ответ на АДФ (ускорена на 63,3 %). Еще позднее АТ наступала в ответ на ристомидин (ускорена на 77,2 %), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (ускорена на 59,9 %), тромбин (ускорена на 40,0 %) и адреналин (ускорена на 41,9 %). Процесс АТ с сочетаниями индукторов так же был выраженно ускорен. При этом число свободноциркулирующих в крови больных тромбоцитарных агрегатов различного размера (количество малых агрегатов было повышено в 4,6 раза, средних и крупных было увеличено в 30 раз) и степень вовлеченности в них тромбоцитов (повышена на 86,1 %) у лиц с АГ и Д весьма существенно превышали значения контроля.

В исходе наблюдения у пациентов агрегация нейтрофилов превышала уровень таковой в контроле со всеми испытанными индукторами (с лектином на 60,2 %, с конканавалином А на 29,7 %, с фитогемагглютинином на 39,8 %).

В течение всего наблюдения (104 нед.) у пациентов выявлена стабильность нарушения липидного спектра крови, ослабления функциональных возможностей АОА и повышенные количества в плазме АГП и ТБК-продуктов.

В ходе наблюдения за пациентами во всех случаях отмечено сохранение исходно нарушенного липидного состава мембран эритроцитов. Аналогичная картина отмечена в мембранах тромбоцитов и нейтрофилов. Это было вызвано сохранением в них высокого содержания ХС и пониженного количества ОФЛ на уровнях близких к исходным до конца наблюдения.

На фоне отсутствия гиполипидемического лечения у наблюдаемых больных с АГ и Д также отмечено сохранение избыточного ПОЛ во всех форменных элементах крови за счет пониженной активности их антиоксидантной защищенности. Так, в течение 104 нед. наблюдения в эритроцитах, тромбоцитах и нейтрофилах пациентов отмечено сохранение исходно ослабленного уровня ферментативной активности СОД и каталазы.

В группе лиц, отказавшихся от гиполипидемического лечения, отмечена стабильность исходно усиленной агрегационной способности учитываемых форменных элементов крови. Так у пациентов, не получавших гиполипидемического воздействия, отмечено сохранение повышенных значений суммарного числа эритроцитов в агрегате и количества самих агрегатов при пониженном количестве в крови свободных эритроцитов в течение всех 104 нед. наблюдения.

Отсутствие гиполипидемического лечения сопровождалось у пациентов сохранением у них на уровне исхода процесса агрегации тромбоцитов *in vitro* и *in vivo* в течение всех 104 нед. наблюдения. Так у всех пациентов в эти сроки наиболее активным индуктором сохранялся коллаген, время развития АТ с которым к концу наблюдения оказалось наименьшим ( $22,4 \pm 0,31$ с). Второе место по скорости развития АТ принадлежало АДФ. Чуть позднее возникала АТ с ристомицином и  $H_2O_2$ , еще позднее с тромбином и адреналином. Длительность АТ с сочетаниями индукторов на фоне отсутствия гиполипидемической терапии также достоверно не менялось. Наиболее ранняя АТ к концу наблюдения возникала под действием сочетания АДФ и коллагена ( $17,7 \pm 0,10$ с). При этом комбинация адреналина и коллагена вызвала агрегацию через  $12,5 \pm 0,15$ с, а в ответ на АДФ и адреналин она наступала спустя  $19,4 \pm 0,14$ с. Это сопровождалось неизменностью высокого числа свободно перемещающихся в крови тромбоцитарных агрегатов на фоне повышенного уровня включения в них тромбоцитов, оставшихся на уровне исхода до 104 нед. наблюдения.

У пациентов, отказавшихся от гиполипидемического лечения, найдено сохранение избыточной выраженности агрегации нейтрофилов со всеми примененными индукторами в течение всего контроля их состояния. Так, к концу наблюдения отмечено превалирование

над контролем выраженности их агрегации в ответ на лектин на 58,3 %, на конканавалин А на 25,6 %, на фитогемагглютинин на 39,8 %.

### **Обсуждение**

Несмотря на разработанность схем лечебного воздействия на организм с помощью лечебной одежды [1,2], физических нагрузок [4] или медикаментов [6,10] и доказанность их пользы, далеко не все пациенты согласны выполнять даваемые им рекомендации. Проведенная работа была посвящена как раз именно таким больным. На фоне сознательного отказа от гиполипидемической терапии у лиц с АГ и Д было отмечено сохранение пониженной антиоксидантной защиты плазмы с неизменно усиленной в ней ПОЛ. Избыточность в течение 104 нед. наблюдения количества холестерина в их крови сопровождалась чрезмерным содержанием в течение этих сроков ХС и высокого уровня градиента ХС/ОФЛ в мембранах учитываемых форменных элементов крови.

У больных, отказавшихся от гиполипидемического лечения, отмечена неизменно высокая агрегационная способность эритроцитов, что в значительной мере является основой для сохранения у них нарушенных реологических характеристик крови. Очевидно, усиленная агрегация эритроцитов у больных АГ с Д, не принимавших гиполипидемического лечения, во многом вызвано стабильно низкой электроотрицательностью поверхности этих форменных элементов крови вследствие сохранения невысокого количества на их мембранах протеинов, имеющих отрицательный заряд [4]. Это вызвано стабильно высокой генерацией активных форм кислорода, сохраняющей не только чрезмерную оксидативную альтерацию электроотрицательных белков мембраны, но и глобулярных белков плазмы, осуществляющих роль «мостиков» между отдельными эритроцитами, что поддерживает на высоком уровне силы сцепления клеток в возникающих агрегатах. Усиленная агрегация эритроцитов на фоне отсутствия гиполипидемической терапии, видимо, также обеспечивается за счет стабильно низкой активности в них аденилатциклазы. Это ведет к сохранению в цитоплазме красных кровяных телец пониженного уровня цАМФ, повышению входа внутрь клетки  $Ca^{2+}$  и повышению активности фосфодиэстеразы [5].

Стабильно раннее наступление АТ у пациентов, не получавших гиполипидемической терапии, оказалось возможным во многом за счет сохранения нарушенности липидного состава и избыточного уровня ПОЛ в плазме и в кровяных пластинках. Эти факторы мощно нарушали в течение длительного времени их рецепторные и пострецепторные механизмы реализации агрегации [9]. Раннее наступление АТ в ответ на ристомидин у больных, не получавших гиполипидемического лечения, можно также объяснить высокой концентрацией в крови фактора Виллебранда и большого числа рецепторов к нему на поверхности тромбоцитов. Ускоренное наступление АТ с  $H_2O_2$  подтверждало отсутствие

динамики ослабленной системы антиокисления в тромбоцитах, в т.ч. выявленное при прямом исследовании активности каталазы и супероксиддисмутазы. Быстрое развитие АТ в случае применения сочетаний индукторов доказывало сохранение нарушенности целостного функционирования у больных рецепторных систем кровяных пластинок во внутрисосудистых условиях [8].

Отсутствие динамики у пациентов избыточной агрегации нейтрофилов за 104 нед. наблюдения обеспечивалось сохранением в их мембранах высокого соотношения ХС/ОФЛ и избыточного количества в составе гликопротеиновых рецепторов локусов, связывающих лектины. Так, фитогемагглютинин способен взаимодействовать в основном с участками bD-галактозы гликопротеинов, лектин зародыша пшеницы – с N-ацетил-D-глюкозамином и N-ацетил-нейраминовой (сиаловой) кислотой, а конканавалин А – с содержащими маннозу N-гликанами. Найденное стабильно высокая лектинстимулированная агрегация нейтрофилов у больных АГ с Д, не получавших гипополипидемического лечения, была вызвана избыточной экспрессией рецепторов адгезии, имеющих повышенное содержание в их составе количества участков, содержащих N-ацетил-D-глюкозамин, N-ацетил-нейраминовую кислоту и маннозу, о чем можно было судить по высокой агрегационной активности нейтрофилов на действие лектина зародыша пшеницы и конканавалина А. Чрезмерная выраженность индуцированной фитогемагглютинином агрегация нейтрофилов, видимо, связана с сохранением у больных стабильно высокого содержания в их рецепторах участков гликопротеинов, содержащих bD-галактозу.

Таким образом, сознательное невыполнение гипополипидемических рекомендаций в течение 104 нед. больными АГ и Д сопровождается сохранением у них высокой агрегации эритроцитов, тромбоцитов и нейтрофилов, что способствует стабильностью у них высокого риска тромбообразования.

**Заключение.** Отказ от гипополипидемической терапии сопровождается у пациентов с АГ и Д стабильно нарушенным липидным составом и избыточным уровнем ПОЛ в плазме и форменных элементах крови в течение всех 104 недель наблюдения. Отсутствие гипополипидемической терапии сохраняет в эти сроки у больных с АГ и Д избыточно высокие агрегационные возможности эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов.

### Список литературы

1. Бикбулатова А.А. Общие подходы к проектированию бытовой одежды с функцией лечебно-профилактических изделий // Швейная промышленность. – 2012. – № 3. – С.38–39.

2. Бикбулатова А.А., Кобрина В.Н. Защитная одежда : патент на полезную модель RUS 144495 12.03.2014.
3. Завалишина С.Ю. Функциональное состояние системы гемостаза у новорожденных теля // Ветеринария. – 2011. – № 6. – С.42-45.
4. Завалишина С.Ю., Нагибина Е.В. Динамика микрореологических особенностей эритроцитов у детей 7–8 лет со сколиозом на фоне лечебной физической культуры и массажа // Технологии живых систем. – 2012. – Т. 9, № 4. – С.29-33.
5. Завалишина С.Ю., Нагибина Е.В. Микрореологические свойства эритроцитов у детей 7–8 лет со сколиозом // Вестник РУДН, серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». – 2013. – № 4. – С.25-29.
6. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. – СПб.: Питер, 1995. – 304с.
7. Краснова Е.Г., Кутафина Н.В. Основы функционирования тромбоцитов // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2015. – № 8. – С.6-18.
8. Кутафина Н.В., Завалишина С.Ю. Механизмы функционирования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза // Вестник РУДН, серия «Экология и безопасность жизнедеятельности». – 2012. – № 1. – С.30-37.
9. Савченко А.П., Завалишина С.Ю., Кутафина Н.В. Тромбоцитарная активность при отсутствии физической нагрузки // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 3; URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=19152>.
10. Сторожаков Г.И., Шевченко О.П., Праскурничий Е.А. Артериальная гипертензия и сопутствующие заболевания. – М.: Реафарм, 2006. – 112 с.