

А.А. Маймистова, А.В. Муравьев, С.В. Булаева, Е.Л. Волкова

### Сравнительный анализ изменений гемореологического профиля мужчин и женщин с нарушениями церебрального кровообращения

В настоящем исследовании был изучен гемореологический профиль мужчин и женщин с церебральным атеросклерозом. В целом основные реологические параметры изменялись сходным образом и у мужчин и у женщин, однако у женщин с церебральным атеросклерозом данные изменения были более выраженными. Это касалось как вязкости цельной крови и плазмы, так и агрегации и деформируемости эритроцитов.

**Ключевые слова:** гемореологический профиль, вязкость цельной крови и плазмы, деформируемость и агрегация эритроцитов, церебральный атеросклероз.

A.A. Majmistova, A.V. Muravjov, S.V. Bulaeva, E.L. Volkova

### Comparative Analysis of Hemorheological Profile Changes of Patients with Cerebrovascular Disease

In the present study the hemorheological profile was investigated in men and women with cerebrovascular atherosclerosis. On the whole the similar rheological changes were observed as men as well as women with cerebrovascular disease, but more pronounced hemorheological profile changes were found in women. It concerned whole blood and plasma viscosity, and red blood cells deformability and aggregation.

**Key words:** hemorheological profile, blood and plasma viscosity, red blood cells deformability and aggregation, cerebrovascular atherosclerosis.

#### Введение

Комплекс реологических характеристик крови – гемореологический профиль [9] может существенно изменяться при атеросклеротических поражениях сосудов [6, 10]. Результатом этих изменений может быть разная степень оксигенации тканей и эффективность энергетического метаболизма клеток. Гемореологические изменения при церебральном атеросклерозе, когда возникает дефицит дилатации сосудов, могут приводить к дальнейшему ухудшению течения крови к органам, и факторами, утяжеляющим течение патологического процесса, могут выступать высокая вязкость крови и плазмы, а также сниженная деформируемость клеток и повышенная их агрегация [7]. Использование комплекса гемореологических параметров может иметь прогностическое значение для выявления нарушений церебрального кровообращения [6]. Разнообразие механизмов формирования синдрома гипервязкости при атеросклеротических поражениях сосудов предполагает, что оптимальной должна быть коррекция.

Исходя из вышесказанного, целью исследования было изучение гемореологического профиля мужчин и женщин с негативными изменениями церебрального кровообращения.

#### Материал и методы исследования

Для достижения поставленной цели было сформировано несколько групп наблюдения. Первую группу составили женщины с церебральным атеросклерозом (ЦА; группа 1; возраст от 50 до 68 лет, n=25). Во вторую группу были включены мужчины с ЦА (группа 2; возраст от 42 до 57 лет, n=26). Для каждой из указанных групп были сформированы соответствующие группы контроля, сопоставимые по полу и возрасту. Диагноз атеросклероза был поставлен на основании комплексного обследования пациентов в условиях специализированного отделения клиники.

Кровь для анализа (в объеме 10 мл. с гепарином в качестве антикоагулянта, 500 ЕД) брали из локтевой вены в асептических условиях клинической лаборатории опытным медперсоналом.

Все измерения и манипуляции с кровью проводились в течение 4 часов после ее взятия при комнатной температуре ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ).

### Методы исследования

В группу методов регистрации *макрореологических* свойств крови включали измерения гематокрита (Hct), вязкости цельной крови при высоких ( $0,196 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$ ;  $\text{ВК}_1$ ) и при низких напряжениях сдвига ( $1,96 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$ ;  $\text{ВК}_2$ ), а также вязкости плазмы (ВП), которые проводились на полуавтоматическом капиллярном вискозиметре. Измерения вязкости проводили при комнатной температуре ( $20,0 \pm 2,0^\circ\text{C}$ ). Гематокрит цельной крови и приготовленных суспензий эритроцитов определяли с помощью специальной центрифуги СМ-70 (Латвия).

Деформируемость и агрегация эритроцитов представляют собой *микрореологическую* часть гемореологического профиля. Для их регистрации из цельной крови клетки получали центрифугированием (10 мин при 2750 об/мин). После этого эритроциты отмывали три раза (5, 5, 15 мин) в изотоническом растворе хлорида натрия (NaCl) с добавлением 5 мМ глюкозы. Затем после периода инкубации 40% суспензии отмытых эритроцитов в изотоническом растворе NaCl (в течение 15 мин при  $37^\circ$ ) проводили регистрацию агрегации и деформируемости клеток. Для оценки деформируемости эритроцитов: 1) измеряли вязкость суспензии эритроцитов с Hct=40% при

напряжении сдвига  $1,96 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$ ; 2) определяли индекс удлинения эритроцитов (ИУЭ) в проточной микрокамере. Для этого камеру заполняли суспензией эритроцитов (0,5%) в изотоническом растворе NaCl, содержащем 5,0 мМ глюкозы и 0,1% альбумина (для предотвращения приклеивания эритроцитов всей поверхностью ко дну микрокамеры) и помещали на предметный столик микроскопа. Затем в камеру подавали давление, которое создавало в ней определенную величину напряжения сдвига ( $\tau = 0,78 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$ ), приводя к вытягиванию клеток по направлению потока (рис. 1). Изображение вытянутых эритроцитов, прикрепленных одной точкой к поверхности микроканала, с микроскопа (рис. 1) передавалось через USB порт в компьютер, используя цифровой окуляр (модель DCM500). После «захвата» и записи изображения его анализировали в специально написанной программе, с помощью которой определялась длина и ширина деформированных клеток (около 100) и рассчитывался индекс удлинения как показатель деформации:  $\text{ИУЭ} = (L-W)/(L+W)$ , где L- длина деформированной клетки, W – ее ширина. Программа разработана таким образом, что в расчет принимались клетки, фиксированные ко дну камеры только одной точкой. Схема всей установки для точной регистрации деформируемости эритроцитов с помощью камерного метода приведена на рис. 1.

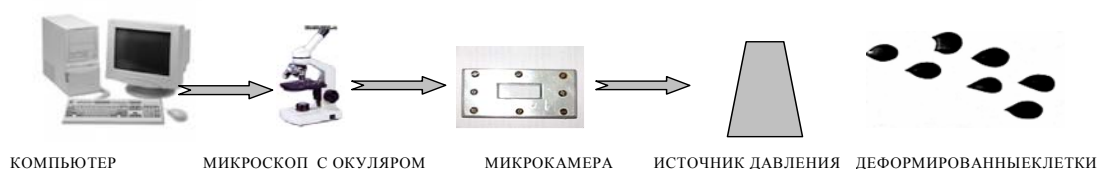


Рис. 1. Схема установки для регистрации изменения деформируемости эритроцитов

Величину агрегации эритроцитов определяли методом прямой микроскопии с компьютерной регистрацией процесса. При агрегатометрии рассчитывали отношение числа агрегатов к количеству неагрегированных клеток, и это отношение рассматривали как показатель агрегации эритроцитов (ПА). Определение эффективности доставки кислорода к тканям производили по формуле:  $\text{ТО}_2 = \text{Hct}/\text{ВК}_1$  [9].

Статистическую обработку полученных цифровых материалов проводили, используя таблич-

ный редактор Microsoft Excel и программу «Statistica» (версия 6.0).

### Результаты и обсуждение

Проведенное исследование гемореологического профиля мужчин и женщин с церебральным атеросклерозом (ЦА) показало, что у данных лиц наблюдалось повышение вязкости цельной крови как при высоких, так и при относительно низких напряжениях сдвига по сравнению с контролем (рис. 2). При этом в группе женщин

с ЦА отмечался достоверный прирост  $ВК_1$  на 32%, а у мужчин на 14%, при низких напряжениях сдвига в группе мужчин вязкость крови была

выше на 16%, а у женщин на 45%, чем в соответствующих группах контроля ( $p < 0,05$ ).

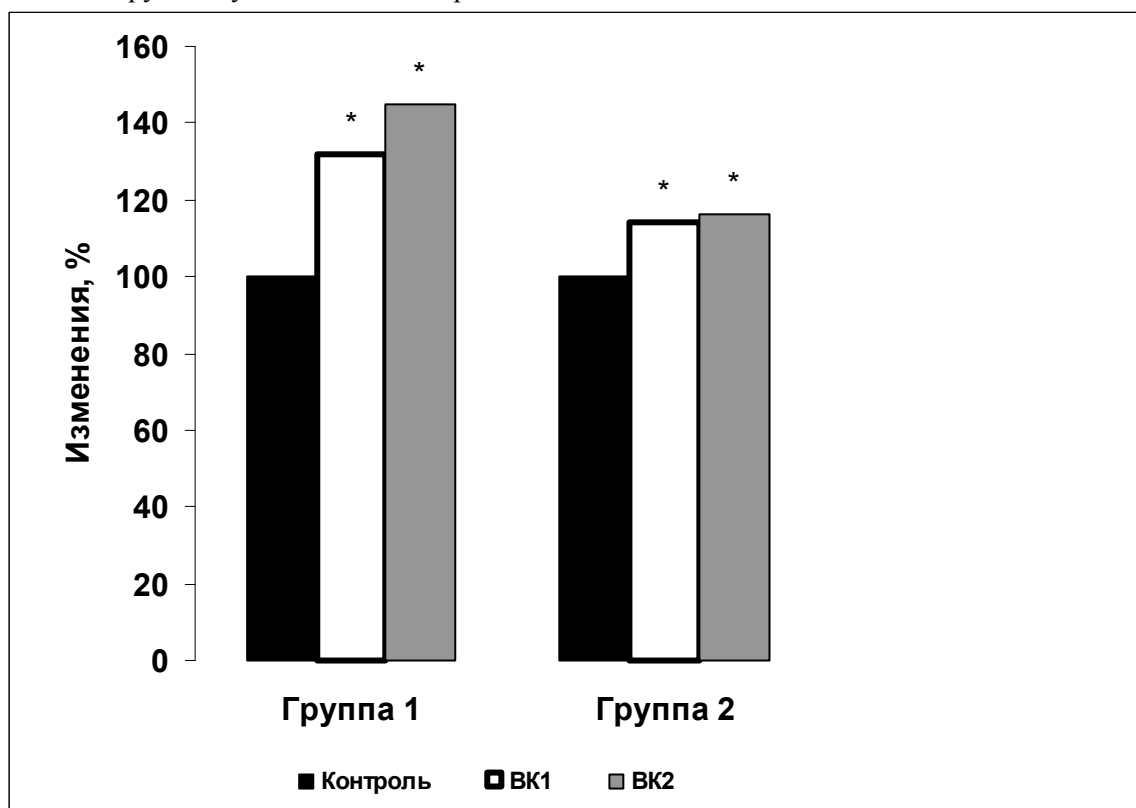


Рис. 2. Изменение показателей вязкости цельной крови лиц с модификацией церебрального кровообращения относительно контроля, где  $ВК_1$  – вязкость крови при напряжении сдвига  $1,96 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-2}$ ;  $ВК_2$  – при напряжении сдвига  $0,196 \text{ Н} \cdot \text{м}^{-2}$

По мнению большинства авторов, вязкость цельной крови при высоких напряжениях сдвига зависит от вязкости плазмы, величины гематокрита и деформируемости эритроцитов [1,8]. В нашем случае повышение высокосдвиговой вязкости крови, зафиксированное в обеих группах лиц с ЦА, в значительной степени определялось приростом вязкости плазмы (на 13%) лишь в группе мужчин с церебральными сосудистыми расстройствами. На это указывало наличие значимой корреляции, выявленной между этими показателями ( $r=0,684$ ). В группе женщин с ЦА вязкость плазмы (ВП) также была заметно выше (на 16%), чем в группе контроля, однако ее величина коррелировала с вязкостью цельной крови при высоких напряжениях сдвига заметно меньше ( $r=0,286$ ). Следовательно, ВП у женщин с модификацией церебрального сосудистого русла вносила меньший вклад в изменение текучести цельной крови при высоких напряжениях сдвига, чем в группе мужчин. Заметная взаимосвязь бы-

ла отмечена между  $ВК_1$  крови и гематокритом и в группе женщин с ЦА ( $r=0,525$ ), и в группе мужчин ( $r=0,362$ ), хотя сам гематокрит у данных лиц мало отличался от контроля.

Что касается  $ВК_2$  у лиц с церебральным атеросклерозом, то ее повышение относительно контроля было в меньшей степени обусловлено повышенной ВП, о чем свидетельствует отсутствие достоверной корреляции между этими показателями и в группе женщин ( $r=0,07$ ) и в группе мужчин ( $r=0,2$ ). Ожидается, что главный вклад в величину низкосдвиговой вязкости должны вносить агрегация (АЭ) и деформация эритроцитов (ДЭ) в потоке [4]. В результате исследования было установлено, что АЭ была заметно повышена у лиц с церебральным атеросклерозом по сравнению с контролем. Причем у женщин с ЦА прирост в степени агрегации эритроцитов относительно здоровых доноров был более существенным (92%;  $p < 0,01$ ), чем в аналогичной группе мужчин, где повышение АЭ составило 56% (рис. 3).

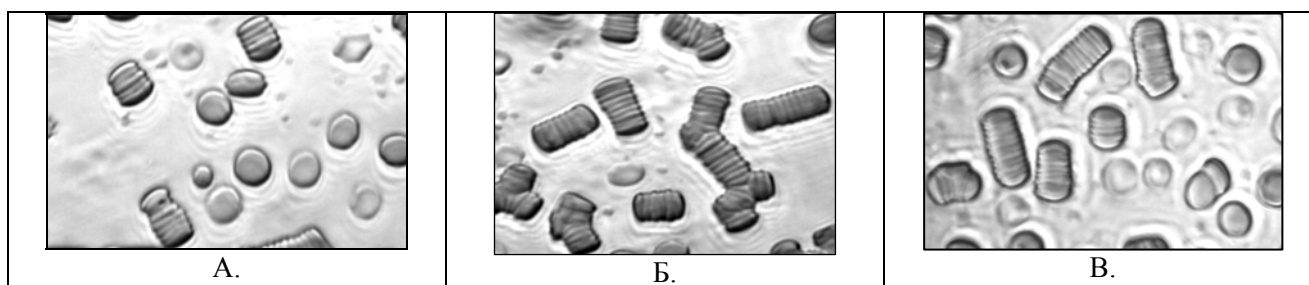


Рис. 3. Разница в агрегации эритроцитов в контроле (А), у женщин с ЦА (Б) и у мужчин с ЦА (В). Микрофото, объектив х40

Корреляционный анализ выявил умеренные взаимосвязи между логарифмами  $ВК_2$  и показателя агрегации эритроцитов и в группе женщин с ЦА ( $r = 0,309$ ) и в группе мужчин ( $r = 0,276$ ). Таким образом, можно полагать, что повышенная способность к агрегации эритроцитов у лиц с церебральным атеросклерозом может вносить заметный вклад в ухудшение текучести крови при низких напряжениях сдвига.

Другой важной микрореологической характеристикой, которая может определять изменения вязкости крови при церебральных сосудистых расстройствах, является деформируемость эритроцитов. Деформируемость эритроцитов, являясь важнейшим свойством, обуславливающим их способность выполнять транспортные функции, особенно на уровне микроциркуляции, зависит от цитоплазматической вязкости, функциональной геометрии клетки и мембранной вязкоэластичности [1,3].

Клеточную деформируемость может характеризовать вязкость суспензии (ВС) в изотоническом буферном растворе при стандартном гематокрите (40%) и постоянной вязкости среды [5]. Повышенные значения ВС, зафиксированные у женщин и у мужчин с ЦА, указывают на снижение ДЭ у данных лиц. При этом наблюдалось достоверное повышение как высокосдвиговой ВС, определяющей вклад цитоплазматической вязкости эритроцитов, на сходную величину и у мужчин и у женщин (9%), так и ВС при низких напряжениях сдвига, обусловленной мембранными характеристиками клеток. Прирост последней у женщин составил 10%, а у мужчин 31%. На существенное снижение пластичности эритроцитов лиц с ЦА по сравнению с контролем указывало также уменьшение индекса удлинения клеток в проточной микрокамере (рис. 4) у мужчин на 9%, а у женщин на 18% ( $p < 0,05$ ).

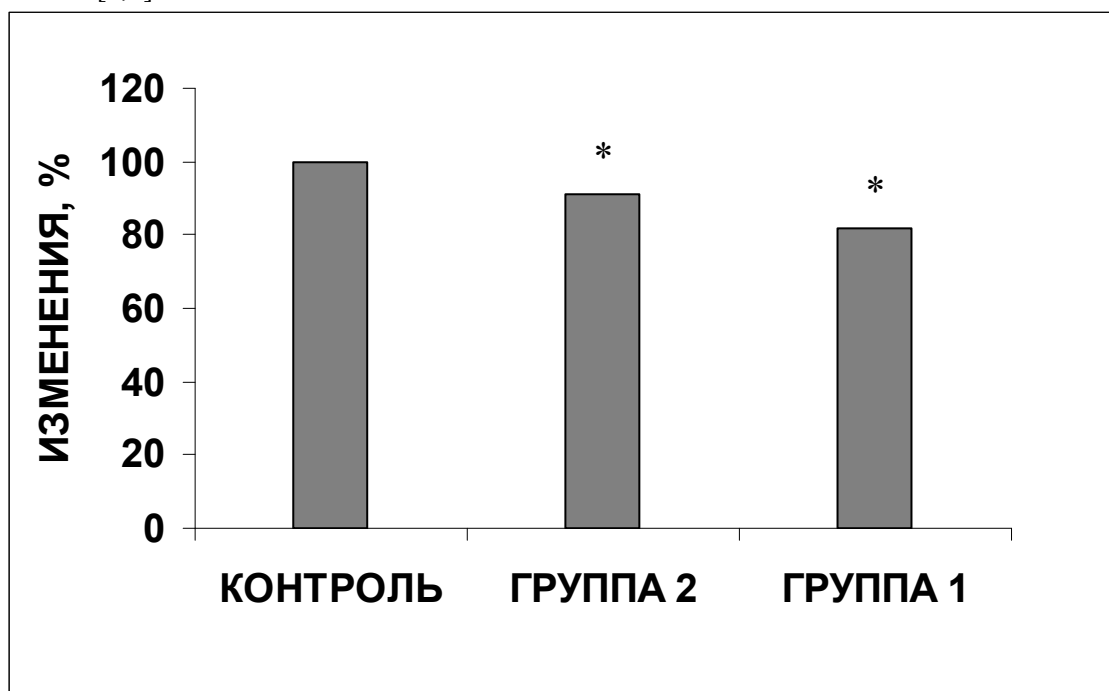


Рис. 4. Изменения (в % относительно контроля) индекса удлинения эритроцитов у женщин с ЦА (группа 1) и у мужчин (группа 2)

Об умеренном вкладе сниженной ДЭ в прирост  $ВК_2$  у лиц с модификацией церебрального кровообращения свидетельствовали взаимосвязи между  $ВК_2$  и вязкостью суспензий эритроцитов как в группе женщин с ЦА ( $r=0,33$ ), так и в группе мужчин ( $r=0,369$ ).

Существенное повышение вязкости крови при сходных с контролем величинах гематокрита у лиц с церебральными сосудистыми расстройствами привело к уменьшению способности крови к эффективной доставке кислорода в ткани. Относительно контрольных лиц в группе женщин с ЦА наблюдалось снижение показателя эффективности транспорта кислорода ( $ТО_2$ ) на 30%, а в группе мужчин – на 13%. Снижение транспортных возможностей крови может отри-

цательно сказаться на течении заболевания [2,9]. Важным фактором, определяющим снижение кислородтранспортной функции крови женщин с модификацией церебрального сосудистого русла, была повышенная ВП. На это указывала значимая корреляция, зафиксированная между  $ТО_2$  и ВП ( $r=0,424$ ). В аналогичной группе мужчин вклад повышенной ВП в ухудшение транспортных возможностей крови был заметно меньше ( $r=0,283$ ). Вместе с тем была выявлена достоверная взаимосвязь  $ТО_2$  с показателем степени ДЭ и в группе женщин ( $r=0,549$ ) и в группе мужчин ( $r=0,651$ ), что свидетельствует о важной роли последней в осуществлении кровью ее транспортной функции.

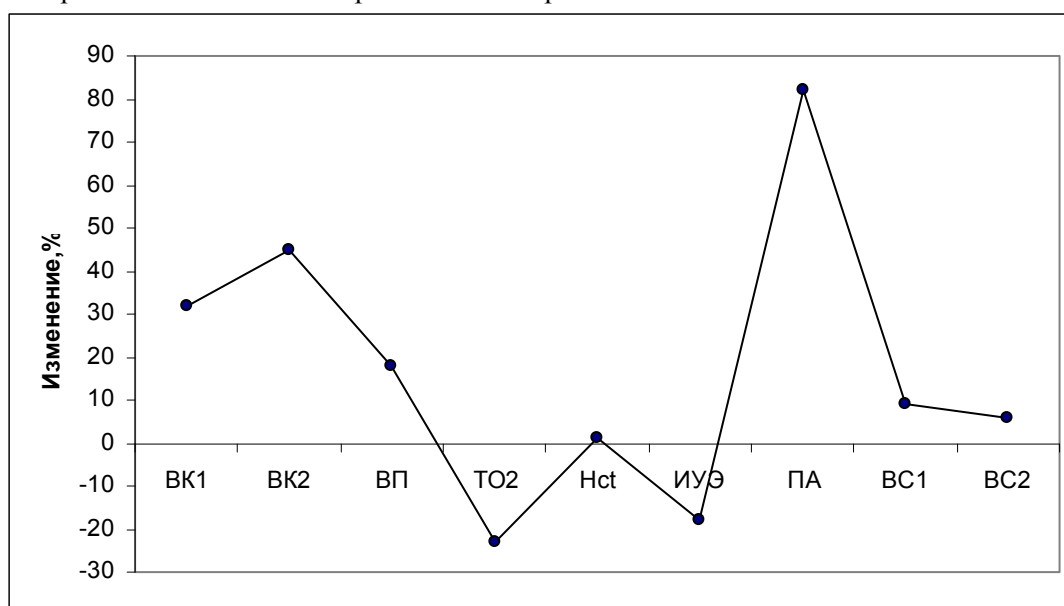


Рис. 5. Гемореологический профиль женщин с церебральным атеросклерозом (проценты отличий по сравнению с контрольной группой)

Обозначения:  $ВК_1$  – вязкость крови при напряжении сдвига  $1,96 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$ ;  $ВК_2$  – при напряжении сдвига  $0,196 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$ ; ВП – вязкость плазмы при напряжении сдвига  $0,784 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$ ;  $ТО_2$  – показатель эффективности транспорта кислорода кровью; Hct – показатель гематокрита; ИУЭ – индекс удлинения эритроцитов; ПА – показатель агрегации;  $ВС_1$  – вязкость суспензии эритроци-

тов при напряжении сдвига  $1,96 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$ ;  $ВС_2$  – при напряжении сдвига  $0,196 \text{ Н}\cdot\text{м}^{-2}$

На рис. 5 и 6 приведены характерные реологические профили мужчин и женщин с ЦА на основе графического представления изменений (в %) всего комплекса параметров по отношению к контрольному уровню. При таком графическом представлении можно четко выявлять наиболее выраженные гемореологические изменения для их последующей коррекции.

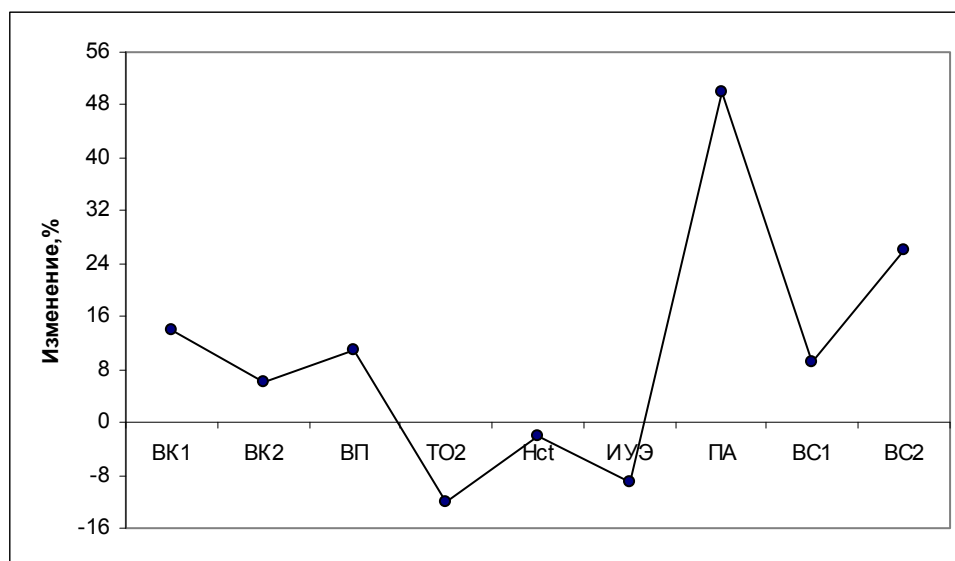


Рис. 6. Гемореологический профиль мужчин с церебральным атеросклерозом (проценты отличий по сравнению с контрольной группой)

Обозначения те же, что на рис.5

#### Заключение:

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что как у женщин, так и у мужчин с нарушениями сосудистого русла по типу церебрального атеросклероза гемореологический профиль заметно отличается от соответствующих характеристик здоровых людей. Существенный вклад в прирост вязкости цельной крови наряду с повышенной вязкостью плазмы

вносят изменения микрореологических свойств эритроцитов. При этом было установлено, что у женщин с церебральными сосудистыми расстройствами он превышал 50%, а у мужчин 30%. В целом у мужчин и у женщин гемореологические показатели имели больше сходных черт, чем различий, что свидетельствует об универсальности действия атеросклероза на реологические свойства крови данной группы лиц.

#### Библиографический список

1. Галенок, В.А. Гемореология при нарушениях углеводного обмена [Текст] / В.А. Галенок, Е.В. Гостинская, В.Е. Диккер. – Новосибирск: Наука, 1987. – 258 с.
2. Гушин, А.Г. Гемореологическая эффективность применения плазмафереза в сочетании с гемодилюцией и лейкоцитосупрессией [Текст] / А.Г. Гушин, С.В. Майнугин, В.А. Шабалин, И.Е. Виноградов, С.В. Сажина // Мат. междунаrodn. конф. по гемореологии и микроциркуляции. – Ярославль, 2003. – С. 58.
3. Baskurt O.K. Handbook of hemorheology and hemodynamics [Текст] / O.K. Baskurt, M.R. Hardeman, M.W. Rampling, H.J. Meiselman. – IOS Press. – 2007. – 455 p.
4. Baskurt O.K., Cellular determinants of low shear blood viscosity [Текст] / O.K. Baskurt, H.J. Meiselman // Biorheology. – 1997. – Vol. 34, N 4–5. – P. 375–376.
5. Cokelet G.B. Macroscopic rheology and tube of human blood [Текст] / G.B. Cokelet // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 1976. – Vol. 1. – P. 9–14.
6. Delamaire M., Durand F., Pinel J.F., Goff M.C., Chauvel P., Beauplet A. Importance of erythrocyte aggregation phenomena in cerebrovascular accidents [Текст] / M. Delamaire, F. Durand, J.F. Pinel, M.C. Goff, P. Chauvel, A. Beauplet // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 1995. – Vol. 15, N 3. – P. 430.

7. Forconi S. Behavior of blood viscosity, intraerythrocytic calcium, total erythrocytic morphology in ischaemic diseases [Текст] / S. Forconi, V. Turchetti, C. Matteis, F. Leoncini, F. Picciolini, L. Trabalzini, G. Postorino, R. Altavilla // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 1995. – Vol. 15, N 3. – P. 68.

8. Müller R. Hemorheology of the cerebrovascular multifunctional disorders [Текст] / R. Müller, F. Lehrach // Currant medical research and opinions. – 1981. – Vol. 7. – P. 253–263.

9. Stoltz J.F. Hemorheology in clinical practice. Introduction to the notion of hemorheologic profile [Текст] / J.F. Stoltz, M. Donner, S. Muller, A. Larcen // J. Mal Vasc. – 1991. – Vol. 6. – P. 261–270.

10. Velcheva I. Hemorheological disturbances in cerebrovascular diseases [Текст] / I. Velcheva, N. Antonova, E. Titianova, P. Damianov, N. Dimitrov, V. Dimitrova // Clin. Hemorheol. and Microcirc. – 2008. – Vol. 39, N 1–4. – P. 391–396.