

На правах рукописи



4850222

ПЧЕЛИНЦЕВА
Татьяна Анатольевна

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ
ПАРАМЕТРОВ ЭРИТРОЦИТОВ И ТРОМБОЦИТОВ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ОККЛЮЗИИ КРУПНЫХ
АРТЕРИЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ**

14.01.30 — геронтология и гериатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

16 ИЮН 2011

Москва–2011

Работа выполнена в Филиале ГОУ ВПО РГМУ Росздрава
« Научно-клинический центр геронтологии»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Шишина Регина Николаевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Точёнов Александр Владимирович

доктор биологических наук

Голубева Вера Леонидовна

Ведущая организация: ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет» им. Семашко М.А.

Защита состоится 29 сентября 2011 г. в 15 часов на заседании диссертационного совета Д.208.072.13 ГОУ ВПО РГМУ Росздрава по адресу: 129226, г. Москва, ул. Леонова,16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Филиала ГОУ ВПО РГМУ Росздрава « Научно-клинический центр геронтологии» по адресу: 129226, г. Москва, ул. Леонова,16.

Автореферат разослан «27» сентября 2011 года.

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Н. М. Соколова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Клиническая практика последних десятилетий свидетельствует о продолжающемся нарастании количества тромбозов магистральных сосудов нижних конечностей и их тяжёлых осложнениях. Из-за несвоевременной диагностики или поздней доставки больных в стационар, специализированная ангиохирургическая помощь этим больным оказывается с опозданием. Убедительным доказательством этого является высокая смертность больных по литературным данным от 20% до 35% и высокая частота ампутаций конечностей по поводу гангрены, достигающая почти 20% [Пальцева М.А.,

Аничкова Н.М., 2001]. Поэтому актуальной задачей сегодняшнего дня является усовершенствование диагностики и современных принципов лечения артериальных окклюзий. Окклюзии крупных артерий нижних конечностей нельзя считать самостоятельным заболеванием. Они всегда являются следствием основных заболеваний. Выявление этиологии и установление патогенеза артериальной окклюзии в каждом конкретном случае является жизненно важной необходимостью. Причины внутрисосудистого тромбообразования были установлены ещё в 1856 г. Р. Вирховым, который объединил их в общеизвестную триаду: повреждение сосудистой стенки, изменение состава крови и нарушение потока крови. Артериальный тромбоз крайне редко развивается в здоровых артериях. Более чем в 90% случаев он возникает у больных с хроническими облитерирующими заболеваниями артерий. Атеросклероз и облитерирующий тромбангиит являются ведущими причинами развития окклюзий крупных артерий [Полянцев А.А., 2004].

Считают, что более редкими причинами тромбоза артерий являются нарушение свёртывающей системы крови и замедление кровотока. Тем не менее, они всегда присутствуют в той или иной степени у больных с хроническими облитерирующими поражениями артерий и, как правило, усугубляют течение заболевания и им сопутствуют тяжёлые осложнения.

Известно, что в силу высокой скорости кровотока артериальные тромбы содержат, в основном, тромбоциты с небольшой примесью эритроцитов и лейкоцитов. Тромбоциты и лейкоциты являются «силами быстрого реагирования», образующими агрегаты и адгезирующими к поверхности сосудистой стенки несколько быстрее, чем возникают отложения фибрина. Нельзя также умилять роль эритроцитов в образовании тромба и нарушении микроциркуляции. В силу больших размеров эритроциты, склеиваясь, могут существенно нарушать кровоток в микрососудах. Следует, однако, отметить, что механизмы участия эритроцитов в образовании тромба ещё недостаточно изучены. Говоря о клеточном гемостазе, как правило, судят об изменениях, происходящих в тромбоцитах, составляющих основную массу первичного артериального тромба. Однако, остаётся большой круг вопросов недостаточно изученных и назрела необходимость иметь новые информативные и доступные в повседневной работе характеристики в оценке состояния системы гемостаза для разработки оптимального мониторинга системы гемостаза при окклюзии

крупных артерий и рационального применения корректирующей терапии, особенно у людей пожилого возраста, имеющих порой сложную сопутствующую соматическую патологию.

На сегодняшний день практически имеются единичные сообщения о количественных и качественных нарушениях тромбоцитов, чаще без учёта возрастного аспекта. Нам также не встретились работы, касающиеся морфологической характеристики эритроцитов периферической крови при окклюзии крупных артерий нижних конечностей. Тем не менее, известно, что одним из основных факторов прогрессирования ишемического синдрома является сокращение объёмной скорости кровотока, что связано не только с поражением капиллярного русла, но, прежде всего, с изменениями гидродинамики крови, в основе которой лежит снижение деформирующей способности эритроцитов.

Отмеченные обстоятельства побудили нас провести многофакторные исследования количественных и качественных морфологических характеристик эритроцитов и тромбоцитов периферической крови и изучить их корреляционные взаимосвязи с параметрами системы гемостаза.

Результаты данного исследования важны в теоретическом и практическом плане, особенно в вопросах совершенствования диагностики нарушений в свёртывающей системе и соответственно оптимизации лечения у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей.

Цель исследования: совершенствование диагностики нарушений системы гемостаза, лечения и прогнозирования окклюзии крупных артерий нижних конечностей на основе комплексного изучения морфологических параметров эритроцитов и тромбоцитов периферической крови у больных различных возрастных групп.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительное изучение стандартных показателей системы гемостаза у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей в острый период течения заболевания и после хирургического лечения с учётом возраста.

2. Выявить и оценить морфологические особенности эритроцитов и тромбоцитов у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей с учётом возраста в острый период течения болезни и после хирургического лечения.

3. Провести сравнительный корреляционный анализ морфологических параметров эритроцитов и тромбоцитов периферической крови и показателей системы гемостаза у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей с учётом возраста.

4. Определить информативность морфологических параметров эритроцитов и тромбоцитов периферической крови при окклюзии крупных артерий нижних

конечностей и оценить их вклад в совершенствование диагностики нарушений в системе гемостаза и лечения заболевания.

Научная новизна

- Впервые были определены и систематизированы особенности морфологических параметров эритроцитов и тромбоцитов периферической крови при окклюзии крупных артерий нижних конечностей в острый период течения заболевания и после хирургического лечения у лиц различных возрастных групп.

- Установлено увеличение среднего объёма эритроцитов и количественное уменьшение популяции нормоцитов как в период острых проявлений болезни, так и после хирургического лечения, наиболее выраженное в старшей группе больных, что указывало на изменение деформирующей способности эритроцитов и нарушение гидродинамики крови.

- Количественное увеличение среднего объёма тромбоцитов в разные сроки после хирургического лечения во всех возрастных группах указывало на сохраняющуюся активацию тромбоцитопоэза и риск развития повторных тромбозов.

- Выявлены закономерности изменений и корреляционные связи между морфологическими параметрами эритроцитов и тромбоцитов периферической крови и показателями системы гемостаза у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей различных возрастных групп в острый период болезни и после хирургического лечения.

- Показана необходимость мониторингирования морфологических параметров тромбоцитов и эритроцитов периферической крови для определения нарушений в свёртывающей системе и их коррекции и выявления групп риска тромбозов.

Практическая значимость работы

- Изменения морфологических параметров эритроцитов и тромбоцитов периферической крови у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей подтверждают наличие активации системы гемостаза и могут служить дополнительными диагностическими тестами для выявления нарушений в свёртывающей системе, контроля лечения и прогноза течения заболевания.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Изменение параметров системы гемостаза у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей в период развёрнутых клинических проявлений и после хирургического лечения соответствуют активации системы гемостаза независимо от возраста.

2. Морфологические характеристики тромбоцитов периферической крови больных отражают их функциональное состояние и подтверждают наличие

повышенного тромбогенного потенциала при окклюзии крупных артерий нижних конечностей, наиболее выраженные у больных пожилого возраста, и риска развития повторных тромбозов.

3. Изучение морфологических параметров эритроцитов периферической крови выявило увеличение среднего объема эритроцитов и количественное уменьшение популяции нормоцитов (эритроцитов-дискоцитов), что свидетельствовало о нарушении деформируемости эритроцитов и, соответственно, усугублении гидродинамических возможностей крови.

4. Морфологические характеристики эритроцитов и тромбоцитов периферической крови при окклюзии крупных артерий нижних конечностей дополняют диагностические тесты для выявления изменений в системе гемостаза и прогностические факторы течения болезни.

Внедрение в практику

Результаты выполненной работы внедрены в практику ФГУ «1586 Окружного военного клинического госпиталя МВО» Минобороны РФ.

Апробация работы

Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на конференции «Пленум правления федерации анестезиологов-реаниматологов России», Геленджик (2011); IV конференции «Цитоморфометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты», Москва (2011); конференция «Актуальные проблемы современной медицины, посвященные 70-летию 1586 ОВКГ Минобороны России», Подольск (2011).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, из которых 3 - опубликованы в рекомендованных ВАК журналах.

Объем и структура диссертации

Материалы диссертации изложены на 131 страницах печатного текста. Диссертация состоит из введения, изложения результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиография включает 139 источников, из которых 74 источника отечественной и 65 - иностранной литературы. Работа иллюстрирована 34 таблицами и 29 рисунками

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты, материал и методы исследования

Положения и выводы работы базируются на результатах клинических и лабораторных исследований 100 больных с окклюзиями крупных артерий нижних конечностей. Работа выполнена на базе лаборатории возрастной

гематологии Филиала ГОУ ВПО РГМУ «Научно – клинический центр геронтологии» Росздрава и ФГУ «1586 Окружного военного клинического госпиталя МВО» Минобороны РФ.

Среди больных были только лица мужского пола от 25 до 74 лет (медиана возраста составила 54, \pm 4,8 лет). В зависимости от возраста больные были распределены на 3 группы. Первую группу составили 26 больных в возрасте 25-44 лет, вторую-57 человек от 45-59 лет и третью-17 пациентов в возрасте от 60 до 74 лет. Наиболее многочисленной оказалась группа пациентов трудоспособного возраста от 25 до 59 лет (83 человека, 83%).

Из 100 пациентов, окклюзия аорто-бедренного артериального сегмента диагностирована у 31(31%) больного, окклюзия подвздошно-бедренного артериального сегмента-в 25(25%), окклюзия бедренно-подколенного артериального сегмента-у 44(44%) больных. Окклюзия артерии бедренно-подколенного сегмента превалировала в зрелом и пожилом возрасте(49 и 53%, соответственно), в молодом-у 62% пациентов имела место окклюзия артерий аорто-бедренного сегмента. (Таблица 1).

Таблица 1

Распределение пациентов по возрасту и в зависимости от локализации окклюзии

Диагноз	Группы пациентов		
	I	II	III
	25-44 лет	45-59 лет	60-74 лет
Окклюзия аорто-бедренного артериального сегмента	16	10	5
Окклюзия подвздошно-бедренного артериального сегмента	3	19	3
Окклюзия бедренно-подколенного артериального сегмента	7	28	9
Всего	26	57	17

Анализ данных проводился проспективно с момента начала наблюдения больных. Формулировка диагнозов соответствовала Международной статистической классификации болезней, травм и причин смерти X пересмотра (МКБ-10, 1992 г.). Возрастная градация обследованных пациентов проводилась с учётом классификации, принятой на Международном симпозиуме по проблемам геронтологии ВОЗ (Москва, 1965).

Общая продолжительность болезни составила от 3 месяцев до 3 и более лет. Пик обращаемости пациентов за медицинской помощью (45%) пришёлся на 1 год от начала заболевания. В работе нами была использована классификация ишемии нижних конечностей R.Fontaine в модификации Покровского А.В.(1979 г.).

Согласно данной классификации наибольшее количество поступивших больных имело III степень ишемии (62%), причём 36% составили пациенты старшей возрастной группы. (Таблица 2).

Таблица 2

Характеристика больных по стадиям ишемии нижних конечностей

Возраст больных (лет) группа	Стадии ишемии нижних конечностей				
	I	II а	II б	III	IV
25-44	0	2	4	3	0
45-59	0	3	7	23	3
60-74	0	2	9	36	8
Всего,%	0%	7%	20%	62%	11%

Наряду с хирургическим методом лечения больным применялась также медикаментозная терапия. Все пациенты как до, так и после лечения получали антиагреганты, в послеоперационном периоде: инфузионную, реологическую, антибактериальную и симптоматическую терапию.

Осмотр пациентов проводили в соответствии со стандартной схемой обследования больных (сбор жалоб, анамнез заболевания и жизни; объективный осмотр). Всем больным при поступлении в стационар проводились клиничко-лабораторные исследования: общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, коагулограмма, флюорографическое исследование органов грудной клетки, ЭКГ, ультразвуковая доплерография, рентгеноконтрастная ангиография крупных артерий нижних конечностей.

Критериями включения для проведения хирургического лечения были:

- выраженная хромота у больного, которая негативно влияла на работоспособность;
- боли в покое, не поддающиеся консервативному лечению (хроническая ишемия n/конечностей 3 степени);
- незаживающая язва или гангрена, обычно ограниченная пальцами или пяткой, или тем и другим;
- ишемические боли в покое и/или тканевые некрозы, включая ишемические язвы или свежую гангрену.

Противопоказаниями являлись:

- несостоятельность дистального артериального русла;
- тотальный кальциноз аорты и подвздошных артерий;
- острый коронарный синдром;
- нежелание пациента лечиться.

Наряду с основным заболеванием у 74 (74%) больных выявлены сопутствующие заболевания, что имело важное значение при определении лечебной тактики

послеоперационного ведения. Причём, 14% пациентов III группы имели место две и более патологии. Наиболее часто сопутствующая патология относилась к системе кровообращения.

Для оценки состояния системы гемостаза были использованы общепринятые, стандартизованные методы с применением коагулометра Diagnostica-stago.

Нами определялись:

- общее время свёртывания (ОВС) (метод Сухарева, уколочная проба Дуже)
- активированное частичное тромбиновое время (АЧТВ).
- протромбиновый индекс, МНО (международное нормализованное отношение)
- протромбиновое время (ПВ) по Квику
- тромбиновое время (ТВ)
- активность антитромбина III (АТ III)
- определение количества фибриногена в плазме крови (ФГ)
- определение фибринолитической активности крови (метод Ковальского, Копека, Ниверовского).

Наряду с этим, осуществлялась оценка состояния сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза с помощью подсчёта тромбоцитов в окрашенных мазках периферической крови на 1000 эритроцитов при световой микроскопии (метод Фонио). Исследование морфологических показателей эритроцитов и тромбоцитов проводилось на гематологическом анализаторе Advia 60. Изучались: средний объём тромбоцитов (MPV, фл), тромбокрит (PCT, %), относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму (PDW, %), средний объём эритроцитов (MCV, фл), гематокрит (HCT, %), ширина распределения эритроцитов по объёму (RDW, %).

Кроме того, были проведены компьютерные морфоцитометрические исследования эритроцитов периферической крови, включавшие площадь клетки (S, мкм²), диаметр (D, мкм), процентное содержание нормоцитов, микро- и макроцитов на отечественном клеточном анализаторе АСПЕК. Повышенный интерес к эритроцитам обусловлен способностью эритроцитов нарушать кровоток в микрососудах в результате их возможности изменять свою форму.

Впервые все тесты выполнены в разные сроки болезни с учётом возраста: в острый период ОКАНК (до лечения), на 1-2 и 19-21 сутки после хирургического лечения.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью стандартных методов с использованием программного обеспечения для ПК: Statistica 6.0 и редактора электронных таблиц MS Excel 7.0. Данные в группах проверялись на нормальность распределения с помощью теста Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test), затем проверялась гипотеза о равенстве дисперсий с помощью теста Левена (Leven). При проверке статистических гипотез был использован непараметрический критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney) для определения значимости межгрупповых различий по количественным признакам. Для оценки

значимости изменений параметров динамики внутри каждой группы выбран критерий Вилкоксона (Wilcoxon). Мера линейной связи между парами показателей оценивалась с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (Spearman). Для всех критериев и тестов критический уровень значимости принимался равным 5%, т.е. нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Основные результаты исследования и их обсуждение

В результате проведённых исследований системы гемостаза у больных с ОКАНК в острый период течения болезни до хирургического лечения были выявлены изменения, подтверждающие наличие у них выраженной активации свёртывающей системы крови. Так, независимо от возраста, у всех больных ОВС крови оказалось укороченным почти в 2 раза по сравнению с физиологической нормой. Наиболее укороченным оно было в 3-ей группе пожилых пациентов, составив в среднем $1,7 \pm 0,3$ мин., при колебаниях от 1,3 до 1,95 мин. (Таблица 3).

Таблица 3

Средние показатели общего время свёртывания в динамике лечения

параметр		Общее время свёртывания			
		до лечения	1-2 сутки	19-21 сутки	
норма		5-10 мин			
Г Р У П П Ы П А Ц И Е Н Т О В	I 25- 44 лет	M±m	2,1±0,55	1,7±0,32	1,9±0,41
		σ	1,6	1,2	0,9
		медиана	1,59	1,42	0,87
		минимум	1,6	1,1	0,75
		максимум	2,9	2,5	2,3
		p-level	0,31	0,18	0,29
	II 45- 59 лет	M±m	1,9±0,07	1,6±0,15	1,69±0,11
		σ	0,8	0,6	0,8
		медиана	1,7	1,4	1,2
		минимум	1,5	1,3	0,03
		максимум	2,4	1,9	2,1
		p-level	0,01	0,04	0,22
	III 60- 74 лет	M±m	1,7±0,03	1,4±0,12	1,8±0,04
		σ	0,4	0,6	0,8
		медиана	1,3	1,1	1,2
минимум		1,3	1,0	1,09	
максимум		1,95	1,65	2,3	
p-level		0,18	0,07	0,37	

На 1-2 сутки после хирургического лечения ОВС имело тенденцию к ещё большему укорочению. Причём, данный показатель остался более чем в 2 раза укороченным и при выписке (на 19-20 дни). Время свёртывания плазмы по тесту АЧТВ в 2 возрастных группах (I и II-ой) находилось в пределах нижней границы нормы, составив $34,7 \pm 2,9$ сек и $34,3 \pm 2,7$ сек, соответственно. В 3-ей группе оно было несколько ниже нормы - $31,3 \pm 2$ сек. На 1-2 сутки после операции во всех группах наблюдалось дальнейшее укорочение АЧТВ и в среднем оно составило по группам от нижней границы нормы в 1 группе - на 18,9%, во 2 – на 16,3%, в 3 – на 24,6%. Наиболее изменённые параметры АЧТВ в послеоперационном периоде были отмечены у группы пожилого возраста с прогрессирующими инволютивными изменениями организма. На 19-21 сутки (при выписке) время свёртывания плазмы у пациентов 1 и 2 групп возвращалось к исходным показателям, что косвенно указывало на уменьшение активности факторов протромбинообразования и соответственно снижении гиперкоагуляционного потенциала составив 33,1 сек 35,6 сек. соответственно. Лишь в 3 группе АЧТВ было 29,3 сек., что свидетельствовало о более выраженной активности свёртывающей системы и необходимости длительного контроля за его показателями. (Таблица 4).

Таблица 4

Активированное частичное тромбиновое время (АЧТВ) в динамике лечения

Параметр		Активированное частичное тромбиновое время (АЧТВ)			
Норма		35-45 сек			
сроки обследования		до лечения	1-2 сутки	19-21 сутки	
Г Р У П П Ы	I	M±m	$34,7 \pm 2,9$	$28,4 \pm 1,8$	$33,1 \pm 0,09$
		σ	5,1	4,6	5,3
	25-44 лет	Медиана	33,5	31,8	34,2
		минимум	29,5	25,3	29,6
		максимум	39,3	32,4	38,1
p-level	0,12	0,41	0,16		
П А Ц И Е Н Т О В	II	M±m	$34,3 \pm 2,7$	$29,3 \pm 0,25$	$35,6 \pm 0,18$
		σ	4,4	5,2	6,1
	45-59 лет	медиана	39,4	26,3	33,8
		минимум	29,6	25,7	27,8
		максимум	41,7	39,6	42,3
p-level	0,22	0,19	0,32		
60-74 лет	III	M±m	$31,3 \pm 2,0$	$26,4 \pm 3,4$	$29,3 \pm 1,5$
		σ	8,3	5,4	6,8
	60-74 лет	медиана	29,4	25,8	27,2
		минимум	26,7	22,4	24,3
		максимум	38,2	31,5	35,4
p-level	0,27	0,21	0,13		

Во всех 3-х возрастных группах до лечения имелось снижение активности АТ-III: в 1 группе – на 14,4%, во 2-ой – на 10,8% и в 3-ей – на 9,01% по отношению к физиологической норме, что уже изначально свидетельствовало о наличии у них повышенного тромбогенного риска. Наибольшее увеличение активности антитромбина III было отмечено на 19-20 день после хирургического лечения, что свидетельствовало о положительном влиянии лечения. В 1 и 2 группах исследуемый показатель приблизился к нижней границе нормы, тем не менее, 3 группе он оставался ниже нормы. (Таблица 5). Таким образом, у пациентов старшей группы риск повторных тромбозов выше, что следует учитывать при последующем диспансерном наблюдении за ними.

Таблица 5

Показатели активности антитромбина III в динамике лечения

Параметр		Определение антитромбина III			
Норма		71 — 115 %			
сроки обследования		до лечения	1-2 сутки	19-21 сутки	
Г Р У П П Ы П А Ц И Е Н Т О В	I 25- 44 лет	M±m	60,80±7,7	64,9±5,5	71,1±6,3
		σ	5,7	5,4	5,8
		медиана	55,1	61,4	65,2
		минимум	56,3	59,1	67,5
		максимум	72,5	71,3	74,8
	p-level	0,13	0,07	0,29	
	II 45- 59 лет	M±m	63,3±7,75	64,1±0,25	71,9±7,1
		σ	6,4	7,3	7,4
		медиана	67,4	62,6	70,3
		минимум	59,7	57,5	68,5
максимум		74,4	69,8	76,9	
p-level	0,21	0,1	0,12		
III 60- 74 лет	M±m	64,6±7,83	63,1±4,2	68,5±3,8	
	σ	5,4	7,3	7,1	
	медиана	63,1	60,7	64,4	
	минимум	61,8	60,3	62,9	
	максимум	71,3	69,4	74,2	
p-level	0,13	0,12	0,23		

Значительные изменения были отмечены со стороны содержания фибриногена. До оперативного вмешательства его концентрация была достоверно повышена во всех возрастных группах, составив: $5,0 \pm 0,4$ г/л; $5,1 \pm 0,7$ г/л; $5,4 \pm 0,6$ г/л; соответственно. Уровень фибриногена оставался повышенным у большинства пациентов и на 1-2 день после операции ($5,4 \pm 0,3$ г/л; $5,2 \pm 0,25$ г/л; $5,5 \pm 0,1$ г/л), хотя и была незначительная тенденция к снижению, особенно к 19-21 дням обследования ($4,1,4 \pm 0,9$ г/л; $4,7 \pm 0,01$ г/л; $4,6 \pm 0,3$ г/л). Так как, фибриноген является белком острой фазы воспаления, повышение его концентрации у больных при окклюзии артерий нижних конечностей, возможно, явилось проявлением защитной реакции организма.

Определение фибринолитической активности плазмы (ФАП) показало, что до операции во всех группах показатель был в пределах референтных значений (11 мин; 12,1 мин; 11,6 мин). Повышение ФАП или укорочение времени растворения фибринового тромба наблюдалось на 1-2 день после операции во всех возрастных группах, что по нашему мнению связано с обширным хирургическим вмешательством.

На 19-20 день обследования показатель во всех возрастных группах вновь возвращался в пределы референтных значений.

Наряду с исследованиями показателей системы гемостаза были изучены и проанализированы морфологические характеристики тромбоцитов.

Оказалось, что средний объём тромбоцитов во всех возрастных группах был статистически значимо повышен, как до, так и на 1-2 и 19-21 дни после хирургического лечения. В 1-ой группе он составил – 11,3, 12,5 и 12,5 фл; во 2-ой группе – 13,3, 12,5, 13,3 фл; в 3-ей группе – 12,9, 11,9 и 12,9 фл, соответственно. Это свидетельствовало о количественном увеличении «юных» или «менее зрелых» тромбоцитах, обладающих значительно большим тромбогенным потенциалом, чем зрелые тромбоциты. Причём, средний объём тромбоцитов не изменялся количественно после лечения, оставаясь выше от максимального референтного значения в 1-ой группе – на 3%, а во 2-ой и 3-ей группах – на 20,9% и 17,3%, соответственно. (Таблица 6).

Таблица 6

Показатели среднего объёма тромбоцитов периферической крови
в динамике лечения

параметр		Средний объём тромбоцитов, фл		
норма		7,4-10,4		
сроки обследования		до лечения	1-2 сутки	19-21 сутки
Г Р У П П Ы	I	$11,3 \pm 0,9$	$12,5 \pm 2,0$	$12,5 \pm 1,8$
	25-44 лет			

П А Ц И Е Н Т О В		σ	1,7	2,5	1,9
		медиана	11,7	12,45	12,46
		минимум	8,6	9,2	8,5
		максимум	14,8	15,7	16,6
	II 45- 59 лет	M±m	13,3±1,1	12,5±1,9	13,3±2,7
		σ	2,0	1,7	1,6
		медиана	11,9	11,65	12,05
		минимум	7,0	7,4	6,9
		максимум	16,8	15,9	17,2
	III 60- 74 лет	M±m	12,9±1,5	11,9±2,3	12,9±2,3
		σ	2,1	1,9	1,8
		медиана	12,3	12,65	13,4
		минимум	8,3	8,9	9,6
		максимум	16,3	16,4	17,2

Результаты исследования PDW в разных возрастных группах показали, что у всех пациентов с окклюзией крупных артерий нижних конечностей имел место тромбоцитарный анизоцитоз, который носил возрастные особенности. Несколько большая гетерогенность тромбоцитов наблюдалась у больных в возрасте от 45 до 59 лет и 60-75 лет. Увеличение анизоцитоза в сочетании с повышенным MPV отражало нарастание макротромбоцитов.

Средние показатели общего количества тромбоцитов и тромбоцитокрита как до, так и после хирургического лечения находились в пределах физиологической нормы, независимо от возраста.

При проведении корреляционного анализа наиболее высокая корреляционная связь выявлена по среднему объёму тромбоцитов и RDW между 2-ой и 3-ей возрастными группами. Оценка статистической значимости различий среднего объёма тромбоцитов (MPV) показала, что коэффициент корреляции между 2 и 3 группами составил 0,533766, с уровнем значимости $p < 0,05$. Для групп 1 и 2 статистически значимых результатов не обнаружено. Оценка статистической значимости различий PDW установила, что коэффициент корреляции между 2 и 3 группами составил 0,797630, с высоким уровнем значимости, $p < 0,001$. Результаты оценки статистической значимости тромбоцрита выявили высокое значимое значение - 0.688961 между группами 1,2 с уровнем значимости $p < 0,001$ и среднее

значимое значение - 0.548999 между группами 1 и 3 с уровнем значимости $p < 0,05$. (Таблица 7).

Таблица 7

Оценка статистической значимости различий морфометрических параметров тромбоцитов периферической крови между группами (критерий Mann-Whitney (U test))

Параметры	1 группа 2 группа	1 группа 3 группа	2 группа 3 группа
	p-level		
Тромбоциты	0.164963	0.826062**	0.065534
Средний объём тромбоцитов (MPV)	0.070335	0.050677	0.533766*
Тромбокрит (PCT)	0.688961**	0.548999*	0.035376
Относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму (PDW)	0.148990	0.179150	0.797630**

Примечание: * - уровень значимости $p < 0,05$; ** - $p < 0,001$

Корреляция связей между MPV и АЧТВ, между MPV и АТ-III в динамике лечения показала обратную связь между показателями. При увеличении MPV снижались количественно время свёртывания плазмы (АЧТВ) и активность АТ-III. Так, до лечения время свёртывания плазмы было укорочено, по сравнению с физиологической нормой, в 1-ой группе – на 0,85%, во 2-ой – на 2% и в 3-ей группе – на 10,6%. MPV оказался повышенным по отношению к физиологической норме – на 2,72%, 20,9% и 17,3%, соответственно.

Подводя итоги по морфологическим исследованиям тромбоцитов периферической крови у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей в разных возрастных группах следует отметить, что наиболее информативным морфологическим показателем оказался средний объём тромбоцитов (MPV), увеличение которого наблюдалось во всех возрастных группах как до, так и в разные сроки после хирургического лечения независимо от возраста. Наиболее высокий MPV был отмечен во 2 и 3 группах больных. Это отражало сохраняющуюся активацию тромбоцитопоэза, что подтверждалось и результатами исследования параметров системы гемостаза. Соответственно повышение MPV может служить дополнительным тестом, свидетельствующим об активации тромбоцитов как до, так и в динамике проводимого лечения. Его повышение указывает на необходимость проведения коррекционных мероприятий системы гемостаза.

Изучение морфологических характеристик эритроцитов периферической крови проведено у 100 больных с ОКАНК в острый период болезни и в разные сроки после хирургического лечения с использованием автоматического гематологического анализатора Advia 60 и отечественного компьютерного анализатора клеточного изображения АСПЕК. До оперативного вмешательства содержание общего гемоглобина, количества эритроцитов и гематокрита соответствовали норме

здорового человека. У всех больных до хирургического лечения общее количество эритроцитов и тромбоцитов соответствовало норме здорового человека.

Средний объём эритроцитов во всех трех группах до лечения, на 1-2 и 19-21 сутки находился на верхней границе нормы. Наиболее стабильным он был во 2 группе (94,6 фл - до лечения, 94,9 фл - 1-2 день, 94,6 фл - 19-20 день). В 1 и 3 группах имелась незначительная тенденция к его увеличению на 19-21 дни. (Таблица 8).

Таблица 8

Показатели среднего объема эритроцитов периферической крови больных в динамике лечения

Параметр		Средний объём эритроцитов (MCV), фл			
Норма		80-95			
сроки обследования		до лечения	1-2 сутки	19-21 сутки	
Г Р У П П Ы П А Ц И Е Н Т О В	I 25- 44 лет	M±m	94,6±5,2	96,9±7,4	95,8±6,7
		σ	2,6	4,1	5,3
		Медиана	91,6	93,5	92,2
		Минимум	88,1	87,6	85,2
		Максимум	97,1	99,4	99,2
	II 45- 59 лет	M±m	94,6±6,1	94,9±4,3	94,6±3,7
		σ	2,50	3,8	3,6
		Медиана	96,15	94,8	93,55
		Минимум	92,5	91,3	89,6
		Максимум	99,8	98,3	97,5
	III 60- 74 лет	M±m	95,4±2,9	93,3±5,1	95,4±4,8
		σ	4,7	6,0	3,9
		Медиана	93,8	92,9	93,65
		Минимум	88,4	87,2	87,5
		Максимум	99,2	98,6	99,8

Показатель анизоцитоза эритроцитов (RDW), который у здоровых людей не превышает 14%, у наших пациентов оказался в 1,5-2 раза выше нормы во всех возрастных группах, составив 21,3±2,4%; 24,8±3,0% и 26,0±3,5%, соответственно. В I-ой группе повышение составило 46,9%, во II-ой -71,3% и в III- 79,3 % по отношению к норме, то есть более выраженный анизоцитоз был у

пациентов зрелого и особенно пожилого возраста. (Таблица 9).

Таблица 9

Показатели анизоцитоза эритроцитов периферической крови больных в динамике лечения

параметр		Относительная ширина распределения эритроцитов по объёму (RDW),%			
норма		11,5 – 14,5			
сроки обследования		до лечения	1-2 сутки	19-21 сутки	
Г Р У П П Ы П А Ц И Е Н Т О В	I 25- 44 лет	M±m	21,3±2,4	25,8±3,0	24,6±3,2
		σ	1,6	2,0	2,2
		медиана	22,2	22,95	24,8
		минимум	18,9	17,7	19,1
		максимум	25,5	28,2	30,5
	II 45- 59 лет	M±m	24,8±3,0	24,5±1,8	24,8±2,4
		σ	1,1	1,6	2,7
		медиана	23,55	23,45	23,9
		минимум	17,6	18,3	18,8
		максимум	29,5	28,6	29,0
	III 60- 74 лет	M±m	26,0±3,5	22,0±2,3	26,0±3,7
		σ	4,1	3,7	3,5
		медиана	25,1	22,8	24,55
		минимум	19,2	17,3	18,3
		максимум	31,0	28,6	30,8

На 19-21 день после операции в I группе наметилось незначительное снижение относительной ширины распределения эритроцитов по сравнению с 1-2 днем после операции - на 1%, но сохранялось увеличение от дооперационного показателя - на 3,5% и нижнего показателя нормы - на 13,3%.

Во 2 группе на 19-20 день относительная ширина распределения эритроцитов возвращалась к дооперационному значению и была 24,8%. В III группе - она продолжала повышаться и составила 26%, что выше границы нижней нормы на 126,1%).

Увеличение анизоцитоза свидетельствует об увеличении количества эритроцитов разного размера с некоторым преимуществом микро - и макроцитов, что позволяет

говорить об уменьшении нормоцитов, то есть дискоцитов периферической крови. Подтверждением сказанного явилось количественное исследование популяций эритроцитов периферической крови, который показал, что во всех 3-х группах, независимо от возраста, имелась тенденция к уменьшению содержания нормоцитов и процентному увеличению числа микро- и почти в 2 раза макроцитов во 2-ой и в 1,5 раза в 3-ей группах, как до хирургического лечения (в острый период болезни), так и на 1-2 и 19-21 дни после хирургического лечения. (Таблица 10).

Таблица 10

Количество нормоцитов в динамике лечения

параметр		Количество нормоцитов, %			
норма		62-74 (68±1,2)			
сроки обследования		до лечения	1-2 сутки	19-21 сутки	
Г Р У П П Ы П А Ц И Е Н Т О В	I	M±m	57,8±4,0	43,7±3,2	48,3±2,9
		σ	4,7	6,1	5,5
	25-44 лет	медiana	56,8	42,75	47,25
		минимум	52,3	38,4	42,5
	лет	максимум	61,3	47,1	52,0
		M±m	43,7±2,5	44,8±3,0	43,7±3,3
	II	σ	5,3	4,9	5,8
		медiana	43,9	44,05	43,8
	45-59 лет	минимум	39,3	39,5	39,1
		максимум	48,5	48,6	48,5
	III	M±m	46,6±4,7	52,6±4,2	46,6±3,1
		σ	6,2	7,4	6,0
60-74 лет	медiana	45,9	51,7	47,75	
	минимум	41,1	45,6	39,6	
лет	максимум	50,7	57,8	55,9	

Как мы видим из Таблицы 10, компьютерное морфоцитометрическое исследование эритроцитов достоверно показало уменьшение количества нормоцитов, независимо от возраста, как до лечения: в 1-ой группе – на 15%, во 2-ой группе – на 38,7% и в 3-ей – на 31,5%, так и в разные сроки после хирургического лечения: на 1-2 суток – на 35,7%; 34,1% и 22,8%, соответственно; на 19-21 сутки – на 29%, 35,7% и 31,5%, соответственно по сравнению с физиологической нормой.

Количественные изменения популяции эритроцитов играют важную роль в способности эритроцитов к деформации, поскольку нормальной деформобильностью обладают лишь нормоциты. В циркуляторном русле эритроциты в силу своей эластичности принимают самую разнообразную конфигурацию, приспособляясь к форме сосуда или изменяясь под действием текущей плазмы. В связи с этим, главными

свойствами эритроцита являются способность к деформации и к образованию агрегатов. При нарушении этих свойств эритроцитов нарушается их упорядоченность в кровеносном русле, превращая ламинарное течение в турбулентное. В силу изменённых размеров, эритроциты, склеиваясь, могут существенно нарушать капиллярный кровоток в микрососудах. Что касается механизмов участия эритроцитов в образовании тромба, они ещё изучены недостаточно. Тем не менее, нельзя умолять роли эритроцитов в образовании тромба и нарушении микроциркуляции.

Оценка статистической значимости среднего объёма эритроцитов (MCV) показала значительную достоверную значимую связь - 0.945821 между группами 1 и 2 с уровнем значимости $p < 0,001$, и 0.658775 между группами 1 и 3 с уровнем значимости $p < 0,001$. Средняя значимая величина 0.508029 обнаружена при исследовании статистической оценки между группами 2 и 3 с уровнем значимости $p < 0,05$.

Достоверное статистическое значение (0.456231) найдено между группами 2 и 3 по показателю распределения эритроцитов по объёму (RDW) с уровнем значимости $p < 0,001$. Для групп 1 и 2, 1 и 3 разность статистически не значима.

Оценка статистической значимости различий количества нормоцитов показала, что между группами нет статистически значимых различий.

При корреляционном анализе долей микроцитов между группами 1 и 2 имеются статистически значимое различие, составляющее 0.972984, с уровнем значимости $p < 0,001$. Между группами 1 и 3, 2 и 3 статистически значимых результатов не найдено. Оценка статистической значимости различий доли макроцитов показала, что коэффициент корреляции между группами 1 и 3 имеет надёжную связь, с уровнем значимости $p < 0,001$. Для групп 1 и 2, 2 и 3 статистически значимых результатов не найдено.

Результаты исследования морфологических параметров эритроцитов периферической крови у пациентов разных возрастных групп с ОКАНК в острый период и после хирургического лечения выявили, что информативными морфологическими показателями являются: анизоцитоз, средний объём эритроцитов (MCV) и количество нормоцитов во всех возрастных группах и в разные периоды течения болезни.

Наиболее выраженные изменения имели место в 3 группе больных, что подтверждалось и коррелировало с результатами исследования морфологических характеристик тромбоцитов и параметрами гемостаза.

Подводя итоги результатам собственных исследований следует, прежде всего, отметить, что сравнительный анализ показателей системы гемостаза, проведённый нами у больных разных возрастных групп с окклюзией крупных артерий нижних конечностей, позволил выявить наиболее характерные нарушения гемокоагуляционных свойств крови, что послужило основанием для более детального изучения морфофункционального состояния клеток, участвующих в свёртывании крови, в частности, тромбоцитов и эритроцитов периферической крови, чтобы лучше понять механизмы тромбообразования, а также увеличить арсенал диагностических и прогностических факторов при ОКАНК. В своих исследованиях мы стремились, прежде всего, связать воедино уже имеющиеся сведения о нарушениях гемостаза,

выявить возрастные особенности этих изменений и дополнить их собственными данными, изучив многофакторно морфологические характеристики тромбоцитов и эритроцитов.

Проведённый корреляционный анализ основных показателей системы гемостаза и морфологических характеристик эритроцитов и тромбоцитов периферической крови показал возможность использования таких морфологических параметров как средний объём тромбоцитов и средний объём эритроцитов, показатель анизоцитоза и количественное определение популяции нормоцитов в периферической крови в качестве дополнительных диагностических тестов нарушений в системе гемостаза, мониторингирования и коррекции изменений в свёртывающей системе, а также для прогноза течения болезни у больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей, как в острый период болезни, так и в динамике проводимого лечения.

ВЫВОДЫ

1. Нарушения в системе гемостаза при окклюзии крупных артерий нижних конечностей характеризуются повышенной её активацией у всех больных, наиболее выраженные в группе пожилых, в виде: укорочения АЧТВ, повышения ОВС в 2-2,5 раза, уменьшения активности АТ-III в 1,5 - 2 раза и повышения содержания фибриногена в 1,5 раза, как в острый период болезни, так и после хирургического лечения. Это свидетельствует о необходимости постоянного диспансерного наблюдения и контроля показателей системы гемостаза при ОКАНК.

2. Установлены следующие особенности морфологических характеристик тромбоцитов при ОКАНК: увеличение среднего объёма тромбоцитов у всех пациентов независимо от возраста как до, так и после хирургического лечения: у молодых - на 3%, в группе зрелого возраста – на 20,9%, у пожилых – на 17,3% в сравнении с физиологической нормой.

3. Выявленная гетерогенность циркулирующей популяции тромбоцитов в сочетании с увеличением их среднего объёма свидетельствовали о повышенной тромбогенности и риске повторных тромбозов.

4. Морфологическое исследование эритроцитов периферической крови у больных с ОКАНК выявило в 76% случаев увеличение среднего объёма клеток и в 1,5-2 раза показателя анизоцитоза у всех больных независимо от возраста и проведённого лечения. Это свидетельствовало о снижении деформобильной способности эритроцитов и нарушении гидродинамики крови.

5. Компьютерный морфоцитометрический анализ эритроцитов определил количественные изменения популяций эритроцитов при ОКАНК. Показано, что независимо от возраста и проведённого лечения, у больных снижено содержание нормоцитов в 1-ой группе на 29%, во 2-ой – на 35,7% и 3-ей группе на 31,5% по отношению к норме и в два раза увеличено количество макроцитов.

6. Выявлены достоверные корреляции между показателями гемостазиограммы, морфологическими параметрами тромбоцитов и эритроцитов периферической крови. Определена обратная корреляционная связь между MPV и MCV и параметрами системы гемостаза: при увеличении MPV и MCV количественно снижались параметры АЧТВ и АТ III.

7. Установлено, что наиболее информативными морфологическими параметрами являются показатель анизоцитоза, средний объём как эритроцитов, так и тромбоцитов и количество нормоцитов в периферической крови. Они могут быть дополнительными диагностическими тестами нарушения гемостаза и использоваться для мониторинга и коррекции изменений в свёртывающей системе крови, а также прогнозирования течения заболевания.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Предложено комплексное клинико-лабораторное обследование больных с окклюзией крупных артерий нижних конечностей, включающее морфологические параметры тромбоцитов и эритроцитов периферической крови, для проведения мониторинга изменений в свёртывающей системе крови, лечения и прогноза течения заболевания, а также своевременного выявления группы риска развития первичных и повторных тромбозов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Пчелинцева Т.А. Морфометрическая характеристика тромбоцитов периферической крови у пациентов с окклюзией крупных артерий нижних конечностей. / Р.Н. Шишина, Т.А Пчелинцева // Журнал. Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие. – 2010.

– т. IV. – №3. – С. 110-114.

2. Пчелинцева Т.А. Морфометрические характеристики эритроцитов периферической крови у пациентов с окклюзией крупных артерий нижних конечностей. / Т.А.Пчелинцева, О.И. Лопырева, Р.Н.Шишина // Главное военномедицинское управление Министерства обороны Российской Федерации. Актуальные проблемы современной медицины, посвящённые 70-летию 1586 ОВКГ Минобороны России. – Подольск, 2011.

- С.45-54.

3. Пчелинцева Т.А. Результаты исследования морфологических параметров тромбоцитов периферической крови при окклюзиях крупных артерий нижних конечностей. / Пчелинцева Т.А., Шишина Р.Н.// Тезисы IV конференции «Цитоморфометрия в медицине и биологии: фундаментальные и прикладные аспекты». – 2011. – Москва. – С. 79-80.

4. Пчелинцева Т.А. Оценка плазменного гемостаза у больных с

послеоперационным венозным тромбозом. / Т.А.Пчелинцева, О.И. Лопырева, Р.Н.Шишина // Журнал Флебология. – Медиа Сфера. 2011. – №3. – С. 32-44.

5. Пчелинцева Т.А. Морфометрические характеристики эритроцитов периферической крови у пациентов с тромбозом крупных артерий нижних конечностей. / Т.А.Пчелинцева, О.И. Лопырева, Р.Н.Шишина // Казанский медицинский журнал.-2011.- №4. – С. 37-52.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АТ-III	– антитромбин III
АЧТВ	– активированное частичное тромбопластиновое время
ВОЗ	– всемирная организация здравоохранения
МНО	– Международное нормализованное отношение
ОВС	– общее время свёртывания крови
ОКАНК	– окклюзия крупных артерий нижних конечностей
ПВ	– протромбиновое время по Квику
ТВ	– тромбиновое время
ФАП	– фибринолитическая активность плазмы
ФГ	– фибриноген
ЦП	– цветной показатель
ЭКГ	– электрокардиография
НСТ	– гематокрит
МСН	– среднее содержание гемоглобина в эритроците
МСНС	– средняя концентрация гемоглобина в эритроците
МСV	– средний объём эритроцитов
MDW	– относительная ширина распределения эритроцитов по объёму
MPV	– средний объём тромбоцитов
PCT	– тромбокрит
PDW	– относительная ширина распределения тромбоцитов по объёму
PLT	– общее количество тромбоцитов
RDW	– относительная ширина распределения эритроцитов по объёму