

ДИНАМИКА БИОФИЗИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ТРОМБОЦИТОВ И ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ОКС, ПОДВЕРГШИХСЯ ЭКСТРЕННОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА

Абрамова Н.О.¹, Цапаева Н.Л.¹, Миронова Е.В.¹, Константинова Е.Э.²
Чижик С.А.², Кужель² Н.С.

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет», 2-я кафедра внутренних болезней, Минск, Беларусь

²ГНУ «Институт тепло- и массообмена» им. А. В. Лыкова НАН РБб Минск Беларусь

АКТУАЛЬНОСТЬ. Сохранение жизнеспособности миокарда при остром коронарном синдроме (ОКС) зависит от полноценного и своевременного восстановления кровотока в коронарном русле, которое, в соответствии с протоколами лечения пациентов с ОКС, осуществляется с помощью тромболитической терапии. Агрегация и деформируемость эритроцитов, которые представляют собой «основную ткань» артериальных сосудов, агрегационные свойства тромбоцитов в ряде случаев определяют морфофункциональное состояние микроциркуляторного русла и имеют прогностическое значение в исходе ревааскуляризации миокарда при ОКС. В этой связи представляется чрезвычайно актуальным определить истинные структурно-функциональные изменения клеток крови (эритроцитов и тромбоцитов) при ОКС и в процессе проводимой ревааскуляризации миокарда (после тромболитического или ангиопластики и стентирования) сведений о чем, в проанализированной нами литературе, нет.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – изучить особенности структурно-функционального состояния эритроцитов и тромбоцитов с использованием метода атомно-силовой микроскопии в патогенезе развития ишемического повреждения миокарда и их изменения под влиянием экстренной тромболитической или эндоваскулярной ревааскуляризации миокарда (чрезкожное коронарное вмешательство) на фоне антикоагулянтной и антиагрегантной терапии как факторов, влияющих на течение и исход острого коронарного синдрома.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Алгоритм включения пациентов в исследование. Для отработки и адаптации диагностических методов, впервые использовавшихся у пациентов с ОКС,

заборы крови у которых осуществлялись в условиях «скорой помощи» (СП) или при проведении первичного чрезкожного коронарного вмешательства (ЧКВ) – ангиографии и стентирования. Исследованы образцы крови у 92 человек, из них у 32 пациентов с ОКС (средний возраст $48,8 \pm 8,4$ года), у 30 пациентов со стабильной стенокардией (СС) (средний возраст $51,9 \pm 6,4$ года) и образцы крови 30 здоровых доноров (средний возраст $28,9 \pm 6,4$ года).

Анализ проводился в три этапа:

1 - подготовка биологического материала.

2 - получение изображений клеток высокого разрешения методом АСМ: исследование геометрии, структуры поверхности и упругих свойств мембраны форменных элементов крови осуществляли при помощи специализированного экспериментального комплекса NT-206 (производства ОДО «Микротестмашины», Беларусь), совмещающего функции сканирующей зондовой и оптической микроскопии.

3 - оценка модуля упругости клеточной мембраны методом АСМ: для оценки упругих свойств мембраны клеток использовался метод статической силовой спектроскопии [5].

На втором этапе в исследование включены 30 пациентов с ОКС: 12 - подвергшихся ТЛТ с использованием металлизе на этапе СП (средний возраст $58,8 \pm 6,6$ года), 18 – ЧКВ (средний возраст $54,9 \pm 9,4$ года), образцы крови которых исследовались с помощью АСМ по вышеуказанному алгоритму.

Разработана карта наблюдения, включающая: анамнестические данные, наличие факторов риска, биохимические критерии ишемического повреждения миокарда, уровень глюкозы, мочевины, креатинина, С-реактивного белка, результаты ЭКГ и ЭХО КГ обследования, данные коронароангиографии.

Лечение пациентов проводилось со строгим соблюдением протоколов ведения пациентов с ОКС на догоспитальном (морфин, нитроглицерин, аспирин, клопидогрель) и стационарном (прямые антикоагулянты, аспирин, клопидогрель, ингибиторы АПФ, бета-блокаторы, статины, при необходимости инфузионно нитроглицерин) этапах.

Результаты исследования морфологических и упругих свойств эритроцитов и тромбоцитов при ОКС методом атомно-силовой микроскопии.

На рисунке 1 представлен пример изображения клеток крови, полученных методом АСМ при применении выбранных параметров сканирования.

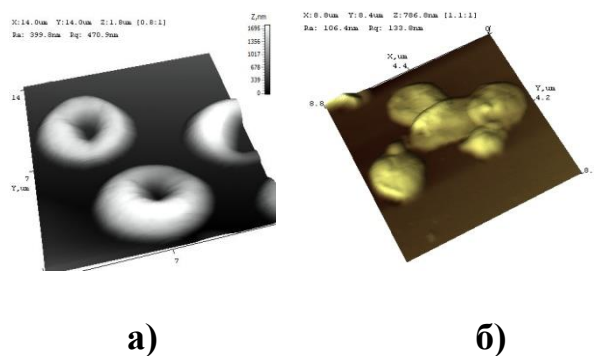


Рисунок 1. а) Пример изображения эритроцита пациента с ОКС через 2 часа от начала обострения состояния; б) Пример изображения тромбоцитов пациента с ОКС через 2 часа от начала обострения состояния.

Все данные о пациентах заносились в разработанную базу данных. Модуль упругости и сила адгезии определялись с помощью метода статической силовой спектроскопии, с последующей обработкой данных с помощью программ SurfaceExplorer, Microsoft Office Excel и Origin. Определение среднего размера и параметров шероховатости проводилось после обработки АСМ-изображений в программе SurfaceExplorer.

Ведение базы данных с разработанной структурой позволило наблюдать динамику изменений параметров, характеризующих морфологические и упругие свойства эритроцитов и тромбоцитов у пациентов с ОКС на различных этапах течения заболевания и проводить статистический анализ данных для определения факторов, прогностически значимых с точки зрения течения и исхода заболевания.

В результате исследования морфологии, ультраструктуры и упругих свойств эритроцитов и тромбоцитов на этапе апробации метода АСМ были получены следующие данные. Значения модуля упругости эритроцитов у пациентов с ОКС находились в пределах от $57,5 \pm 6,6$ до $88,2 \pm 9,05$ МПа, у пациентов со стабильной стенокардией – от $04,5 \pm 8,2$ до $138,8 \pm 9,1$ МПа, у практически здоровых лиц – от $72,3 \pm 7,1$ до $81,4 \pm 7,9$ МПа (рис.2).

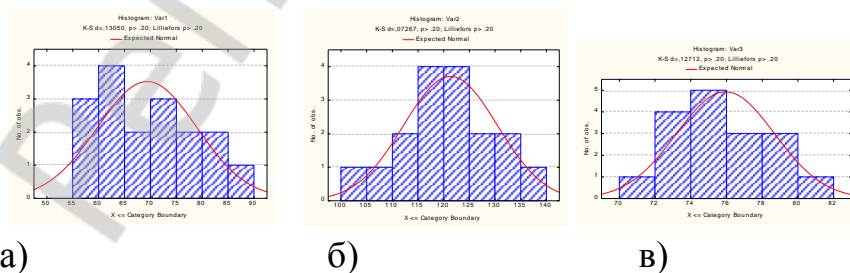


Рисунок 2. Распределения значений модуля упругости эритроцитов: а) в группе пациентов с ОКС (n=32); б) в группе пациентов со стабильной стенокардией (n=30); в) в группе практически здоровых лиц (n=30).

Значения силы адгезии эритроцитов находились в пределах от 22,2 до 33,3 нН. Значения модуля упругости эритроцитов у пациентов с ОКС в исходном состоянии находились в пределах от 57,5 до 90,5 МПа. Распределение значений данного параметра представлено на рисунке 3.

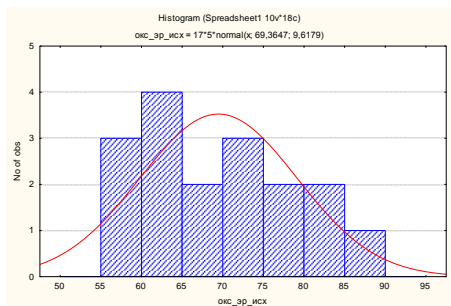


Рисунок 3. Распределение значений модуля упругости эритроцитов в группе пациентов с ОКС (исходно).

Значения модуля упругости эритроцитов у пациентов с ОКС, которым проводилось ЧКВ, через 1 месяц находились в пределах от $77,5 \pm 7,2$ до $108,2 \pm 9,3$ МПа. Распределение значений данного параметра представлено на рисунке 4.

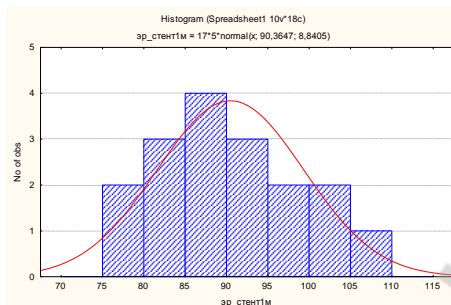


Рисунок 4. Распределение значений модуля упругости эритроцитов в группе пациентов с ОКС, которым проводилось экстренное ЧКВ миокарда (через 1 месяц наблюдения).

Значения модуля упругости эритроцитов у пациентов с ОКС, которым проводилась экстренная ТЛТ, через 1 месяц находились в пределах от $67,5 \pm 6,3$ до $98,2 \pm 9,3$ МПа. Распределение значений данного параметра представлено на рисунке 5.

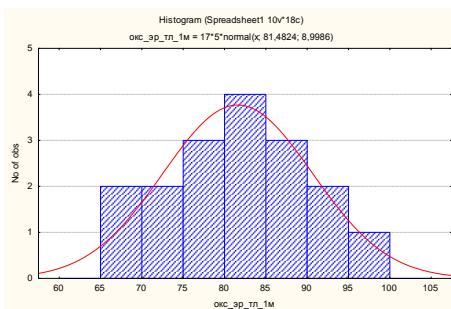


Рисунок 5. Распределение значений модуля упругости эритроцитов в группе пациентов с ОКС, которым проводилась экстренная тромболитическая терапия (через 1 месяц наблюдения).

Значения силы адгезии в исходном состоянии у пациентов с ОКС находились в пределах от 22,2 до 33,3 нН. У пациентов, которым была проведено экстренное ЧКВ, этот показатель составил: на 10-е сутки - от 19,1 до 28,3 нН, через 1 месяц – от 18,7 до 27,3 нН. У пациентов, которым проводилась ТЛТ, этот показатель составил: на 10-е сутки - от 21,4 до 30,1 нН, через 1 месяц – от 19,8 до 29,1 нН. Полученные данные указывают на стабилизацию состояния мембраны красных клеток крови с 10-х суток наблюдения, и значительным улучшением или нормализацией через 1 месяц наблюдения. У пациентов, которым проводилось ЧКВ тенденция к увеличению модуля упругости эритроцитов и снижению силы адгезии выражены более значительно. При изучении упругих свойств тромбоцитов установлено, что модуль упругости кровяных пластинок выше, чем эритроцитов. Значения модуля упругости тромбоцитов у пациентов с ОКС в исходном состоянии находились в пределах от $101,5 \pm 10,8$ до $128,8 \pm 10,5$ МПа. Распределение значений данного параметра представлено на рисунке 6.

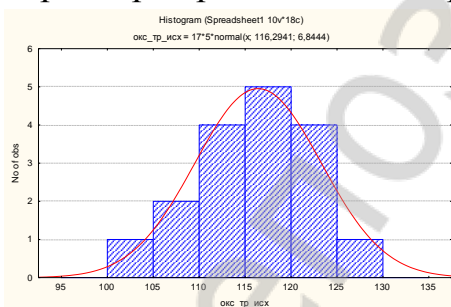


Рисунок 6. Распределение значений модуля упругости тромбоцитов в группе пациентов с ОКС (исходно)

На 10 сутки наблюдения значения модуля упругости тромбоцитов у пациентов, которым проводилось ЧКВ, составили от $102,1 \pm 10,7$ до $118 \pm 7,5$ МПа; ТЛТ - от $93,4 \pm 10,2$ до $106,1 \pm 11,3$ МПа; через 1 месяц наблюдения

значения модуля упругости тромбоцитов находились в пределах от $104,5 \pm 8,2$ до $138,8 \pm 10,1$ МПа и $65,2 \pm 7,1$ до $82,7 \pm 8,8$ МПа, соответственно. Распределение значений данного параметра представлено на рисунке 7.

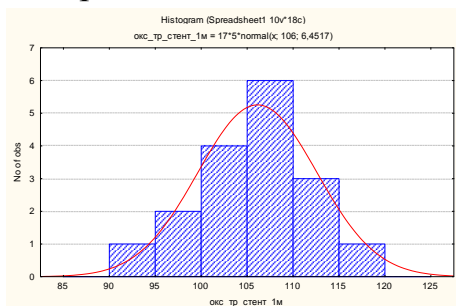


Рисунок 7. Распределение значений модуля упругости тромбоцитов в группе пациентов с ОКС, которым проводилась ЧКВ (через 1 месяц наблюдения).

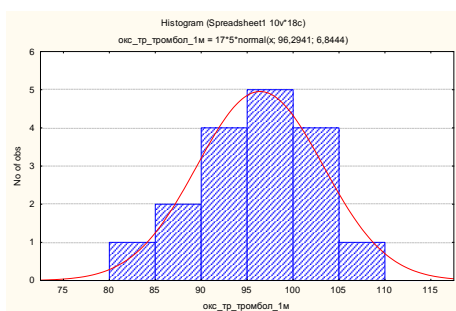


Рисунок 8. Распределение значений модуля упругости тромбоцитов в группе пациентов с ОКС, которым проводилась экстренная тромболитическая терапия (через 1 месяц наблюдения).

Как видно из представленных данных у пациентов с ОКС, как после эндоваскулярной реваскуляризации миокарда, так и после экстренной тромболитической терапии на фоне проведения в течение первых 10 суток антиагрегантной и антикоагулянтной терапии с последующим продолжением антиагрегантной терапии, имеет место тенденция к снижению значений модуля упругости тромбоцитов уже через 10 суток наблюдения, которая усиливается через 1 месяц наблюдения, что может быть следствием уменьшения степени активации тромбоцитов в результате адекватной антиагрегантной терапии. У пациентов, получивших в эстренном периоде тромболитическую терапию эта тенденция более выражена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1) Установлено, что у пациентов с ОКС особенностью эритроцитов является более низкий модуль упругости и высокая сила адгезии, у тромбоцитов –

увеличение активации кровяных пластинок, что указывает на дестабилизацию клеточных мембран у данной категории пациентов.

2) После эндоваскулярной реваскуляризации миокарда, так и экстренной тромболитической терапии у пациентов на 10-е сутки имеют место тенденции к увеличению модуля упругости и уменьшению силы адгезии эритроцитов и к уменьшению модуля упругости тромбоцитов, которые через 1 месяц наблюдения выражены в еще большей степени.

3) Полученные данные свидетельствуют о стабилизации мембран эритроцитов в ответ на своевременную реваскуляризацию миокарда, что более значимо у пациентов, перенесших эндоваскулярную реваскуляризацию миокарда, и снижении степени активации тромбоцитов, что более выражено у лиц, которым проводилась экстренная тромболитическая терапия.

4) Установлено, что независимо от характера воздействия и сроков наблюдения, модуль упругости тромбоцитов выше такового у эритроцитов.

Литература

1. Epidemiology and pathophysiology of acute coronary syndrome/Eftekhari H., Bukharovich I., Aziz E., et al.// Acute coronary syndrome. – 2008. – p.25-36.
2. Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS)/ Wijns W. [et al.] // Eur. Heart J. - 2010.- Vol.31.- P. 2501–2555.
3. Бокерия Л. А., Ревитшвили А. Ш., Неминуций Н. М., Внезапная сердечная смерть. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 272 с.
4. Бокерия О. Л., Ахобеков А. А. Внезапная сердечная смерть: механизмы возникновения и стратификация риска// Анналы аритмологии. – 2012. – Том 9. – Номер 3. – С. 32–40.
5. Внезапная сердечная смерть. Рекомендации Европейского Кардиологического общества (под ред. проф. Н.А.Мазур). - М., 2003. - 148с.
6. Out-of-hospital cardiac arrest the relevance of heart failure. The Maastricht Circulatory Arrest Registry/ Gorgels AP, Gijssbers C, de Vreede-Swagemakers J, Lousberg A, Wellens HJ. Eur Heart J. – 2003. – Vol. 24. – n. 13. – P. 1204–1209.
7. Alpert J.S. Myocardial infarction redefined-a consensus document of The Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the redefinition of myo-cardial infarction / J.S. Alpert, K. Thygesen, E. Antman, J.P. Bassand // J Am Coll Cardiol. — 2000. — 36. — P. 959-969.
8. Molecular mechanism of cellular uptake and intracellular translocation of fatty acids / J.F. Glatz, J.J. Luiken, F.A. van Nieuwenhoven et al. // Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. — 1997. — 57. — P. 3-9.
9. Release of fatty acid-binding protein from isolated rat heart subjected to ischemia and reperfusion or to the calcium paradox / J.F. Glatz, M. van Bilsen, R.J. Paulussen et al. // Biochim Biophys Acta. — 1988. — 961. — P. 148-152.

10. Body R. Towards evidence based emergency medicine: Best BETs from the Manchester Royal Infirmary. *Bet 2. Heart Fatty Acid binding protein for rapid diagnosis of acute myocardial infarction in the emergency department / R Body // Emerg Med J.* — 2009. — 26. — P. 519-522.