

Корреляция изменений гемореологии и микроциркуляции при синдроме диабетической стопы

Нижегородский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии
e-mail: levin@unn.ac.ru

Реферат

У 48 пациентов проведено исследование показателей гемореологии — агрегации, дезагрегации и деформируемости эритроцитов; гемостаза — спонтанной (потокиндуцированной), индуцированной АДФ агрегации тромбоцитов, содержания фибриногена и растворимых фибринмономерных комплексов в плазме крови; а также микроциркуляции: перфузии, сатурации крови в микроциркуляторном русле, объемного гематокрита исследуемого объема ткани, характеристик активных и пассивных факторов регуляции микрокровотока. Для оценки влияния нарушений гемореологии и гемостаза на микроциркуляцию рассчитана корреляция зависимости между полученными данными. Выявлены четкие корреляции степени агрегации эритроцитов с активными и пассивными факторами регуляции микроциркуляции, а также умеренная положительная корреляция с перфузией тканей кровью микроциркуляторного русла. Установлены умеренные обратные корреляции между показателями спонтанной агрегации тромбоцитов с перфузией и сатурацией крови в микроциркуляторном русле, а также прямая корреляция между концентрацией фибриногена и одним из пассивных факторов регуляции микрокровотока — амплитудой пульсовой волны. Сделан вывод о существенном вкладе гемореологических и гемостазиологических нарушений в расстройствах микроциркуляции при синдроме диабетической стопы.

Ключевые слова: гемореология, гемостазиология, микроциркуляция.

Levin G. Y., Kudritsky S. J., Izumrudov M. R.

Correlation changes of hemorheology and microcirculation in diabetic foot

Research Institute for Traumatology and Orthopaedy, Nizhny Novgorod
e-mail: levin@unn.ac.ru

Abstract

Research of indicators of hemorheology — aggregation, disaggregation and deformability of red blood cells is conducted in 48 patients with diabetic foot; of hemostasis — spontaneous (stream-induced), induced ADP aggregation of platelets, content of fibrinogen and soluble fibrin-monomeasured of complexes in blood plasma; and as microcirculation indicators: perfusion, saturation of blood in microvasculature, volumetric hematocrit the investigated volume of tissue, characteristics of active and passive factors of regulation of a microblood-groove. For estimation of influence of infringements hemorheology and a hemostasis on microcirculation it is calculated correlation dependences between the received data. Are revealed accurate correlation aggregation degrees red blood cells with active and passive factors of regulation of microcirculation, and also moderate positive correlation with perfusion fabrics blood microvasculature. The moderate back correlation are established between indicators of spontaneous aggregation of platelets with perfusion and saturation of blood in microvasculature, and also a straight line correlation between concentration fibrinogen and one of passive factors of regulation of a microblood-groove — amplitude of pulse wave. The conclusion is drawn on the essential contribution haemoreologyc and hemostasiologyc infringements in microcirculation frustration in diabetic foot.

Keywords: hemorheology, hemostasiology, blood microcirculation.

Введение

Среди осложнений сахарного диабета синдром диабетической стопы (СДС) занимает лидирующие позиции. Это тяжелое поражение сосудов, нервов, кожи, мягких тканей, костей и суставов стопы часто заканчивается ампутацией одной или обеих нижних конечностей [4], а также сопровождается высокой летальностью больных [12, 24]. По данным Международного соглашения по диабетической стопе [11], 40–70 % всех ампутаций нижних конечностей связано с сахарным диабетом.

Одной из главных причин развития синдрома диабетической стопы является поражение сосудов нижних конечностей (макро- и микроангиопатия) [7],

вызывающее ухудшение микроциркуляции, которое у 30 % больных приводит к ишемии конечности и появлению гнойно-некротических осложнений [6].

У 5 % пациентов развитие этих осложнений носит прогрессирующий характер вне зависимости от степени компенсации углеводного обмена [5].

Кроме ангиопатии, важнейшими причинами ухудшения микроциркуляции при синдроме диабетической стопы являются нарушения реологических свойств крови и системы гемостаза. Вопросам патогенеза этих нарушений при сахарном диабете посвящено множество отечественных и зарубежных публикаций [13, 18, 19, 21]. Однако некоторые

аспекты данной проблемы до сих пор остаются не выясненными. В частности, практически не изучена роль гемореологических и гемостазиологических нарушений в патологии микроциркуляции при синдроме диабетической стопы.

Материал и методы исследования

Исследование проводили в клинике гнойной остеологии Нижегородского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии у 48 больных с синдромом диабетической стопы смешанной формы (нейроишемической), с различной степенью гнойного воспаления на стопе — некроз, флегмона, гангрена.

Спонтанную агрегацию тромбоцитов и эритроцитов исследовали на реоскопе, сконструированном по принципу Н. Schmid-Schonbain et al. [22] в модификации Г. Я. Левина и др. [14]. Клетки крови помещали между двумя плоскопараллельными пластинами, вращающимися навстречу друг другу. В центре нижней пластины имеется цилиндрическое углубление (глубиной 0,9 мм — для изучения спонтанной агрегации тромбоцитов и 90 мкм — для исследования агрегации и дезагрегации эритроцитов). При контакте верхней и нижней пластин между ними образуется камера, в которой находится суспензия эритроцитов или суспензия тромбоцитов.

Процесс агрегации эритроцитов регистрировали на самописце (по изменению оптической плотности) после гидродинамического перемешивания суспензии клеток и его остановки. После достижения максимальной амплитуды агрегации исследовали дезагрегацию эритроцитов, на скоростях сдвига 10 с^{-1} , 15 с^{-1} , 20 с^{-1} (D_{10} , D_{15} , D_{20}). Оценивали степень агрегации (по максимальной амплитуде агрегатограммы — M_a), скорость агрегации (по амплитуде агрегатограммы через 40 с, после начала агрегации (мм)) — A_{40} , а также степень дезагрегации.

Спонтанную агрегацию тромбоцитов изучали в условиях сдвигового потока (скорость сдвига — 100 с^{-1} – 160 с^{-1}) с видеозаписью процесса агрегации. Компьютерную обработку полученных микрофото снимков производили специально разработанной программой, принцип работы которой основан на пороговой бинаризации изображения и последующем определении интегральной оптической плотности каждого объекта и всех объектов кадра в целом. Оценивали степень агрегации (по суммарной максимальной интегральной оптической плотности

тромбоцитарных агрегатов — M_a), скорость агрегации (по суммарной интегральной оптической плотности тромбоцитарных агрегатов через 180 с, после начала процесса агрегации — A_{180}). Индуцированная АДФ ($2 \times 10^{-5}\text{ М}$) агрегация тромбоцитов исследовалась турбидиметрическим методом с оценкой тех же параметров (соответственно M_a и A_{20}).

Деформируемость эритроцитов изучали в ригидометре путем их вытяжения в условиях искусственного сдвигового потока, в котором деформации (вытяжению) подвергаются не все, а лишь наиболее деформируемые эритроциты [1, 2]. Подсчитывали количество деформированных и недеформированных клеток.

Кроме этого, определяли концентрацию фибриногена (гравиметрическим методом) и РФМК в плазме крови с помощью планшетного варианта набора реагентов.

Микроциркуляцию в сосудах пораженной нижней конечности исследовали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) анализатором ЛАКК-02. Зонд накладывали на подошвенную поверхность первого пальца пораженной конечности и на тыл стопы в первом межпальцевом промежутке. Оценивали основной показатель микроциркуляции (М), амплитуда которого пропорциональна скорости и количеству эритроцитов в сосудах микроциркуляторного русла, а также относительное насыщение кислородом или сатурацию крови в артериальном, капиллярном и веноулярном звеньях микрососудистого русла (SaO_2). В режиме реального времени вычисляли объемный гематокрит тестируемого фрагмента ткани (Vr), характеризующий процентное содержание гемоглобина в ней.

Для анализа структуры регуляции микрогемодиализации оценивали изменения амплитуды колебаний в диапазонах активных, тонусформирующих влияний — нейрогенных и миогенных, а также пассивных — дыхательных и пульсовых — с помощью математического аппарата вейвлет-преобразования. [23]. Для зон с наличием артериоло-веноулярных шунтов вычисляли показатель шунтирования (ПШ), характеризующий степень интенсивности шунтового кровотока.

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные данные по исследованным показателям микроциркуляции сведены в табл. 1.

Показатели микроциркуляции у больных с синдромом диабетической стопы

Таблица 1

Показатель	Локализация					
	тыл стопы			подушечка большого пальца стопы		
	перфузия, пф. ед.	сатурация, %	объемный гематокрит, %	перфузия, пф. ед.	сатурация, %	объемный гематокрит, %
СДС	9,5±1,7*	56,8±3,8	12,8±1,2*	5,7±1,4*	48,5±3,2	7,5±0,66*
Норма	12,7±8,95	57,4±13,6	8,73±1,08	13,2±10,2	54,9±15,0	9,67±0,74

* $p < 0,05$ — сравнение с нормой, t-критерий Стьюдента для независимых групп.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

При анализе показателей микроциркуляции нами было выявлено, что на тыле пораженной стопы средний поток крови (перфузия) значительно снижен — в среднем на 25,2 %. В то же время процент насыщения крови в микрососудистом русле кислородом (сатурация SO_2) существенно не отличался от аналогичного у лиц без СДС, а показатель количества эритроцитов в процентах от исследуемого объема ткани (V_r) был достоверно увеличен. Иные результаты были получены при ЛДФ на подушечке большого пальца пораженной стопы. На этом участке показатели SO_2 и V_r уже были ниже нормы, а перфузия снизилась в 2,5 раза, т. е. еще более значительно, чем на тыле стопы. Расчет амплитудно-частотного спектра микрокровотока с помощью вейвлет-анализа полученных ЛДФ-грамм выявил, что на тыле пораженной стопы существенно снижены миогенный и нейрогенный компоненты регуляции сосудистого тонуса, а на подушечке большого пальца стопы отмечено еще большее их уменьшение. У здоровых людей этим компонентам принадлежит основная роль в регуляции микроциркуляции [15]. Утрата нейрогенного и миогенного контроля прекапиллярной вазоконстрикции, которая при сахарном диабете происходит вследствие периферической аутосимпатэктомии, приводит к повышению внутрикапиллярного давления и увеличению кровотока через артериоло-веноулярные шунты, что тем самым уменьшает объем нутритивного капиллярного кровотока [3]. Показатель шунтирования (ПШ) на подушечке большого пальца пораженной стопы составил $1,21 \pm 0,30$. Согласно данным А. И. Крупаткина и В. В. Сидорова [10], поступление значительного объема крови в нутритивное звено происходит при условии, если ПШ меньше 1,0. Обнаруженное нами увеличение показателей SO_2 и V_r на тыле стопы, предположительно, могло быть обусловлено явлениями венозного застоя в этой зоне.

Таким образом, с помощью ЛДФ нами показано, что микроциркуляция в пораженной конечности у больных с синдромом диабетической стопы существенно нарушена. Раскрытие артериоло-веноулярных анастомозов (шунтов) является частичной компенсацией сниженной перфузии конечностей [20]. Однако такой механизм не устраняет явления тканевой гипоксии ниже шунта. Кроме того, регуляция величины шунтового кровотока не осуществляется должным образом из-за снижения импульсации по симпатическим нервным волокнам вследствие диабетической нейропатии [25, 26].

У больных с диабетической стопой было исследовано также состояние гемореологии и гемостаза. Полученные данные по агрегации и дезагрегации эритроцитов представлены в табл. 2.

Как видно из приведенных данных, у всех больных было выявлено увеличение степени агрегации в среднем на 43,9 %, ее скорости — на 78,5 %, а также снижение дезагрегации в среднем на 12,8 % в зависимости от скорости сдвига. Последнее свидетельствует о повышенной прочности образующихся эритроцитарных агрегатов, что, в свою очередь, ухудшает качество микроциркуляции, прежде всего, на уровне посткапиллярных венул.

Степень деформируемости эритроцитов, характеризующая их способность к течению по кровеносным сосудам диаметром меньше 8 мкм, была снижена на 13,5 %; причем наиболее выраженная деформация зафиксирована только у 37 % клеток. В норме этот показатель составляет в среднем 73 %.

Нарушение агрегационных свойств тромбоцитов было установлено также у всех пациентов. Полученные результаты приведены в табл. 3.

Исследование индуцированной АДФ агрегации тромбоцитов у больных СДС выявило повышение ее степени в среднем на 27,3 % и скорости на 15,8 %. Более информативными, по нашему мнению, были показатели спонтанной агрегации тромбоцитов, ис-

Показатели агрегации и дезагрегации эритроцитов у пациентов с синдромом диабетической стопы

Таблица 2

Показатель	Агрегация эритроцитов, мм		Дезагрегация эритроцитов, %		
	M_A	A_{40}	D_{10}	D_{15}	D_{20}
СДС	$137,3 \pm 3,4^*$	$99,4 \pm 2,3^*$	$66,6 \pm 2,5^*$	$82,4 \pm 2,1$	$91,3 \pm 2,0$
Норма	$95,4 \pm 3,6$	$55,7 \pm 5,0$	$84,7 \pm 2,7$	$95,4 \pm 2,1$	$98,6 \pm 2,0$

* $p < 0,05$ — сравнение с нормой, t-критерий Стьюдента для независимых групп.

Показатели спонтанной и индуцированной АДФ агрегации тромбоцитов у больных с синдромом диабетической стопы

Таблица 3

Показатель	Индуцированная агрегация тромбоцитов		Спонтанная агрегация тромбоцитов	
	M_A , мм	A_{20} , мм	M_A , у. е.	A_{180} , у. е.
СДС	$176,9 \pm 8,1^*$	$70 \pm 4,3^*$	$1786,3 \pm 83,7$	$1531,8 \pm 65,9^*$
Норма	$139,3 \pm 5,9$	$44,1 \pm 6,0$	$1206 \pm 71,7$	$893,5 \pm 41,2$

* $p < 0,05$ — сравнение с нормой, t-критерий Стьюдента для независимых групп.

ключающие влияние экзогенных индукторов. Они также были выше нормы у больных СДС: в среднем степень агрегации была увеличена на 48 %, а ее скорость — на 71 % (табл. 3).

При изучении показателей плазменного гемостаза было выявлено увеличение содержания фибриногена, в среднем на 11,5 %. При этом гиперфибриногемия сопровождалась резким увеличением содержания РФМК — в 20 раз выше верхней границы нормы.

Для оценки влияния нарушений гемореологии и гемостаза на микроциркуляцию мы выполнили расчет корреляционной зависимости между показателями степени агрегации клеток крови, коагуляционного гемостаза и данными ЛДФ на пораженной конечности. Было обнаружено, что показатель степени агрегации эритроцитов четко коррелировал с факторами регуляции микроциркуляции на тыле пораженной стопы: активными — нейрогенным ($r=0,62$), миогенным ($r=0,6$) и пассивными — сердечным ($r=0,62$), а также дыхательным ($r=0,66$). Можно полагать, что появление в микрососудах (как в венозных, так и в артериальных) большого количества эритроцитарных агрегатов приводит к увеличению нейрогенных и миогенных влияний на сосудистый тонус в зоне микроциркуляции, стимулирует выброс эндотелием вазоактивных веществ, а также усиливает пульсовую волну в артериях и дыхательную волну в венах.

В пользу этого свидетельствует также обнаруженная нами умеренная прямая корреляция между степенью агрегации эритроцитов и показателем перфузии на тыле пораженной стопы ($r=0,41$). Такой механизм может иметь компенсаторный характер и направлен на возможно быстрое удаление эритроцитарных агрегатов из зоны микроциркуляции. Однако, как указывалось ранее, при сахарном диабете активность нейрогенного и миогенного компонентов сосудистого тонуса значительно снижена вследствие аутосимпатэктомии. Поэтому компенсаторные возможности такого механизма могут быть ограничены и в условиях

постоянно повышенной эритроцитарной агрегации прогрессирование нарушений микроциркуляции может усилиться.

Нами также выявлена умеренная обратная корреляционная связь между степенью спонтанной агрегации тромбоцитов и показателями перфузии и SO_2 на тыле пораженной стопы (в обоих случаях $r = 0,40$). На пальцах стопы мы обнаружили умеренную прямую корреляцию между концентрацией в крови фибриногена и амплитудой пульсовой волны ($r=0,46$). Это свидетельствует о том, что увеличение спонтанной тромбоцитарной агрегации, которое мы выявили у больных, может снижать перфузию и насыщение кислородом пораженных тканей стопы. Повышение же концентрации фибриногена сопровождается, как известно, увеличением вязкости крови. Поэтому обнаруженная нами связь фибриногемии с интенсивностью пульсовой волны на тыле стопы может свидетельствовать о компенсаторном увеличении сердечного выброса в ответ на гипервязкость крови. Полученные результаты в определенной степени демонстрируют вклад гемореологических и гемостазиологических нарушений в расстройства микроциркуляции при синдроме диабетической стопы. Таким образом, значительную роль в терапии, направленной на улучшение кровотока по микрососудам у данного контингента больных, должна играть коррекция гемореологических и гемостазиологических расстройств. Этим можно объяснить, что, помимо широко применяемых схем медикаментозной терапии расстройств микрогемодинамики при СДС, высокой эффективностью обладают и немедикаментозные методы гемокоррекции.

По нашим данным, хорошей результативностью обладают плазмаферез, в особенности его модификация с криосорбционной обработкой аутоплазмы [9], и гипербарическая оксигенация [8], а по данным литературы — методы квантовой фототерапии с использованием источников видимого красного [17] и ультрафиолетового диапазонов [16].

Литература

1. А. с. 1363065 СССР, МКИ J 01N 33/14: Устройство для деформации эритроцитов в сдвиговом потоке / Г. Я. Левин, В. Г. Яхно, Н. Н. Царевский, Н. П. Котяева (СССР). № 3954988/28-14; заявл. 16.09.85; опубл. 30.12.87. — Бюл. № 48.

2. А. с. 1377111 СССР, МКИ А 61 К 35/14. Способ определения деформируемости эритроцитов / Г. Я. Левин, Н. Н. Царевский, Н. П. Котяева, (СССР). № 3938707/28-14; заявл. 30.07.85; опубл. 29.02.88. — Бюл. № 8.

3. Балаболкин, М. И. Использование лазерного доплеровского расходомера в целях ранней диагностики диабетических микроангиопатий / М. И. Балаболкин, Г. Г. Мамаева, Е. А. Трошина // *Методология флоуметрии*. — М.: Медицина, 1997. — С. 29–34.

4. Газетов, Б. М. Хирургические заболевания у больных с сахарным диабетом / Б. М. Газетов, А. П. Калинин. — М.: Медицина, 1991. — С. 21.

5. Галстян, Г. Р. Хронические осложнения сахарного

диабета, этиопатогенез, клиника, лечение / Г. Р. Галстян // *Русский мед. журн.* — 2002. — № 10 (27). — С. 1266–1271.

6. Дибиров, М. Д. Диабетическая стопа: выбор лечения у лиц пожилого и старческого возраста / М. Д. Дибиров // *Consil. Medic.* — 2003. — № 5 (12). — С. 727–732.

7. Ефимов, А. С. Диабетические ангиопатии / А. С. Ефимов. — 2-е изд. — М., 1989. — 288 с.

8. Исаченкова, О. А. Сочетанное влияние гипербарической оксигенации и аутогенной тренировки на патофизиологические и психоэмоциональные нарушения у больных с СДС / О. А. Исаченкова, Г. Я. Левин // *Вопросы гипербар. мед.* — 2010. — № 1–2. — С. 8–9.

9. Кудрицкий, С. Ю. Влияние криоплазмафереза на микроциркуляцию у больных с синдромом диабетической стопы / С. Ю. Кудрицкий // *СТМ*. — 2010. — № 3. — С. 84–86.

10. Лазерная доплеровская флоуметрия микроцирку-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ляции крови: рук-во для врачей / под ред. А. И. Крупаткина, В. В. Сидорова. — М.: Медицина, 2005. — 256 с.

11. *Международное соглашение по диабетической стопе / сост. Международ. рабочей группой по диабетической стопе // III Международ. симп. по диабет. стопе. Ноордвайкерхорт, Нидерланды. 5–8 мая 1999. — М.: Берег, 2000. — 96 с.*

12. *Моисеев, С. В. Сахарный диабет II типа: чем лечить и как лечить? 20-летний опыт исследования UKPDS / С. В. Моисеев // Клинич. фармакол. и терапия. — 1999. — № 2. — С. 77–81.*

13. *Муравьев, А. В. Роль гормонов и простагландинов в изменении микрореологических свойств эритроцитов человека / А. В. Муравьев // Тр. гемост. реол. — 2007. — № 4. — С. 47–52.*

14. *Пат. 2278381 РФ, ПМК G01N 33/48: Устройство для исследования агрегации тромбоцитов / Г. Я. Левин, А. П. Модин, С. Ю. Кудрицкий, Л. Н. Соснина. № 2005100408/14; заявл. 11.01.05; опубл. 20.06.06. — Бюл. № 17. — 6 с.*

15. *Петроченко, Е. П. Оценка состояния микроциркуляции пациентов с ишемической болезнью сердца и здоровых лиц методом лазерной доплеровской флоуметрии / Е. П. Петроченко [и др.] // Материалы IV Всерос. конф. «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». — М., 2009. — С. 184–185.*

16. *Раков, А. Л. Ультрафиолетовое облучение крови в комплексном лечении больных сахарным диабетом / А. Л. Раков // Клин. мед. — 1991. — № 69 (8). — С. 95–99.*

17. *Семина, Е. А. Лечение лазером гнойно-некротических осложнений нижних конечностей при диабетических ангиопатиях / Е. А. Семина // Материалы междунар. конф. «Новые достижения лазерной медицины». — М.; СПб., 1993. — С. 530–531.*

18. *Токмакова, А. Ю. Антикоагулянты в терапии диа-*

бетической макроангиопатии / А. Ю. Токмакова, Д. Н. Староверова, М. Б. Анциферов // Consil. Medic. — 2002. — № 4 (10). — С. 535–536.

19. *Cicco, G. Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension / G. Cicco, A. Pirelli // Clin. Hemorheol. and Microcircul. — 1999. — № 21 (3–4). — P. 169–177.*

20. *Hamdy, O. Contribution of nerve-axon reflex-related vasodilatation to the total skin vasodilatation in diabetic patients with and without neuropathy / O. Hamdy [et al] // Diab. Care. — 2001. — № 24. — P. 344–349.*

21. *Kikuchi, Y. Variation in red blood cell deformability and possible consequences for oxygen transport to tissue / Y. Kikuchi, Q. W. Da, T. Fujino // Microvasc. Res. — 1994. — № 47 (2). — P. 222–231.*

22. *Schmid-Schönbein, H. A counter-rotating «rheoscope chamber» for the study of the microrheology of blood cell aggregation by microscopic observation and microphotometry / H. Schmid-Schönbein [et al] // Microvasc. Res. — 1973. — № 6. — P. 366–376.*

23. *Schmid-Schonbein, H. Synergetic Interpretation of Patterned Vasomotor Activity in Microvascular Perfusion: Discrete Effects of Myogenic and Neurogenic Vasoconstriction as well as Arterial and Venous Pressure Fluctuations / H. Schmid-Schonbein [et al] // Int. J. Microcir. — 1997. — № 17 (1). — P. 346–359.*

24. *Standl, E. Predictors of 10-year macrovascular and overall mortality in patients with NIDDM: the Munich general practitioner project / E. Standl [et al] // Microvasc. Res. — 1996. — № 39 (12). — P. 1540–1545.*

25. *Vinik, A. Dermal neurovascular dysfunction in type 2 diabetes / A. Vinik [et al] // Diab. Care. — 2001. — № 24. — P. 1468–1475.*

26. *Vinik, A. Platelet dysfunction in type 2 diabetes / A. Vinik // Diab. Care. — 2001. — № 24. — P. 1476–1485.*