

УДК 612.135

**ПРИМЕНЕНИЕ КЛАСТЕРНОГО И КОРРЕЛЯЦИОННОГО АНАЛИЗА
ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
У БОЛЬНЫХ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

Криштон В.В., Пахроva О.А.

ГБОУ ВПО ИвГМА Минздрава России, Иваново, e-mail: chrishtop@isma.ivanovo.ru

Проведен анализ взаимосвязи гемореологических характеристик больных эссенциальной артериальной гипертензией и группы контроля. При помощи кластерного и корреляционного анализа были выявлены два варианта гемореологических перестроек, возникающих на фоне эссенциальной артериальной гипертензии, сопровождающихся разным сочетанием компенсаторных процессов. Определены функциональные взаимосвязи и гемореологические маркеры, характеризующие каждый вариант адаптации.

Ключевые слова: варианты адаптации, реология крови, кластерный анализ, корреляционный анализ, эссенциальная артериальная гипертензия.

**USE OF THE CLAUSTER AND CORRELATION ANALISIS
TO ESTIMATE HEMORHEOLOGICAL INDICATORS
IN ESSENTIAL HYPERTENSION PATIENTS**

Chrishtop V.V., Pahrova O.A.

Ivanovo State Medical Academy (ISMA), Ivanovo, e-mail: chrishtop@isma.ivanovo.ru

The analysis of the relationship hemorheological characteristics of essential hypertension patients and the control group. Using cluster and correlation analysis identified two variants hemorheological rearrangements occurring on the background of essential hypertension, involving different combinations of compensatory processes. Defined functional relationships and rheological markers characterizing each type of adaptation.

Keywords: adaptation options, blood rheology, cluster analysis, correlation analysis, essential hypertension.

Введение

Артериальная гипертензия (АГ) и дислипотеидемия признаны ведущими факторами риска заболеваний сердечно-сосудистой системы [10]. Полифакториальность, половая, возрастная, этническая специфика заболевания и ряд других факторов позволяют говорить об индивидуальной склонности к артериальной гипертензии, на основе которой происходит выделение групп риска заболевания [8], а многочисленные исследования гемореологии о ее важной роли в формировании данной патологии [1]. Кластерный анализ является статистическим методом позволяющим выявить однородные группы, объединенные внутренней общностью изучаемых параметров [3], что на наш взгляд может обеспечить выявление таких факторов риска в рамках системы параметров реологии крови.

Цель исследования выявить варианты адаптивных изменения показателей микро- и макрореологии крови у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией

Материал и методы исследования

Для решения поставленных задач в клинике ИвГМА им. проф. Е. М. Бурцева и ГУЗ «Кардиологический диспансер» обследовано 105 человек больных эссенциальной артериальной гипертензией 1 и 2 степени (37,14% мужчин и 62,86% женщин), в возрасте

от 18 до 61 года (средний возраст – 44,12 ± 9,0 года). Контрольную группу (группа К) составили 44 практически здоровых пациента (72,7% женщин и 27,3% мужчин) в возрасте от 21 до 59 лет (средний возраст – 40,78 ± 1,84 года). Продолжительность артериальной гипертензии в среднем составила 6 ± 2,6 года.

Наличие и степень АГ определяли в соответствии с рекомендациями ВНОК «Диагностика и лечение артериальной гипертензии» (2008). Больные включались в исследование при наличии стабильной АГ и отсутствии регулярной гипотензивной терапии. Критерии исключения: симптоматическая АГ, наличие пораженных органов-мишеней и ассоциированных клинических состояний, ожирение, сахарный диабет, острые и обострения хронических заболеваний внутренних органов. АГ 1 степени была выявлена у 64 пациентов, АГ 2 степени имелась у 41 больных. Исследование было одобрено этическим комитетом ИвГМА.

Забор крови для исследования реологических свойств проводился из кубитальной вены утром, натощак, после 12-часового голодания, в качестве антикоагулянта использовался 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении 1:9.

Регистрацию вязкостных характеристик цельной крови и плазмы проводили на ротационном вискозиметре «конус-конус» АКР-2 при постоянной температуре +37,0 ± 0,1°C на скоростях сдвига от 10 до 200 с⁻¹. Определяли содержание гемоглобина и показатель гематокрита стандартными методами.

Процесс сборки линейных агрегатов оценивали с помощью автоматического агрегометра эритроцитов типа МА1 («Mugenne», Германия), разработанного на основе метода Н. Schmid-Schonbein, 1990. Степень агрегации определялась через 5 и 10 секунд после остановки (M5 и M10) и при низкой скорости сдвига 3 с⁻¹ (M15 и M110). Медленный процесс агрегации

эритроцитов, связанный с формированием крупных многомерных образований определяли оптическим методом, рекомендованным для использования комитетом экспертов ВОС по стандартизации в гематологии и ICSH (2009), с вычислением среднего размера агрегата (CPA), показателя агрегации (ПА) и процента неагрегированных эритроцитов (ПНА).

Деформируемость эритроцитов изучали фильтрационным методом с использованием автоматического прибора ИДА-4. В качестве показателя деформируемости эритроцитов использовался индекс ригидности (ИР):

$$\text{ИР} = (t_s - t_b) \times 100 / t_b \times \text{Ht};$$

где t_s – время прохождения через фильтр 250 мкм суспензии эритроцитов; t_b – усредненное время прохождения через фильтр 250 мкм ресуспендирующего раствора; Ht – значение гематокрита суспензии в процентах.

Для оценки структурно-функциональных свойств мембраны эритроцитов исследовалась их цитоархитектоника с помощью метода фазово-контрастной микроскопии после фиксации крови в 1% растворе глутарового альдегида с выделением 10 основных форм по классификации Г.И. Козинца. Первые пять классов эритроцитов (с признаками эхиноцитарной трансформации) принято считать обратимо деформированными, так как эти клетки способны спонтанно восстанавливать форму. Остальные классы эритроцитов относятся к группе необратимо деформированных или предгемолитических форм.

Для выявления устойчивых групп пациентов, характеризующихся общностью изучаемых параметров микро- и макрореологии для всей выборки, включающей в себя группу контроля и пациентов с ревматоидным артритом проводился кластерный анализ. Процедура кластеризации заключалась в выявлении двух кластеров методом К-средних. В последующем для каждого кластера, а также для группы контроля и группы пациентов с ревматоидным артритом определялись: среднее значение каждого показателя, ошибка среднего и дисперсия. Достоверность различия средних определялась при помощи Т-критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

Для оценки силы и характера внутренней детерминированности системы реологических параметров крови для исследуемых групп и для выявленных кластеров строились квадратные матрицы коэффициентов ранговой корреляции Спирмена, в которые заносились только достоверные ($p < 0,05$) коэффициенты корреляции. Для оценки степени коррелированности системы параметров, для каждой группы и кластера строились гистограммы распределения коэффициентов корреляции.

В последующем на основе анализа данных квадратных матриц и результатов Т-критерия Стьюдента выявлялись статистически достоверные различия в реологических показателях, корреляция которых низка или отсутствует.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проведенного кластерного анализа была выявлена группа из 69 пациентов (кластер А) в которую вошли только больные АГ, в кластер Б вошли остальные

случаи (группа контроля и частично больные АГ). В последующем нами изучались особенности кластера А, в сравнении с контрольной группой и группой больных АГ без пациентов вошедших в кластер А (группа Б).

На первом этапе настоящей работы были изучены особенности изменений реологических свойств крови у пациентов группы Б по сравнению с группой К. Наблюдаемые изменения гемореологических показателей в первую очередь были связаны с повышением вязкости плазмы с $1,83 \pm 0,03$ мПа*с до $1,96 \pm 0,04$ мПа*с ($p < 0,02$). Повышение вязкости крови наблюдалось только на низких скоростях сдвига (В-50, 20, 10), без существенных изменений вязкости крови на высоких скоростях сдвига (В-200, 150, 100). При анализе морфологических форм эритроцитов было выявлено усиление стоматоцитарной трансформации мембраны и увеличение доли необратимых форм клеток за счет снижения обратимо деформированных эритроцитов, что не отразилось на количестве дискоцитов, так в группе Б по сравнению с контролем, уровень стоматоцитов составил $6,08 \pm 0,98\%$, против $3,24 \pm 0,51\%$ ($p < 0,01$) соответственно. При этом способность эритроцитов к деформации в группе Б была даже выше, чем в контроле, что отразилось снижением индекса ригидности эритроцитов с $54,78 \pm 3,74$ до $41,05 \pm 2,43$ ($p < 0,005$). Существенных изменений показателя гематокрита, содержание гемоглобина в крови и агрегации эритроцитов в группе Б обнаружено не было. Однако вышеперечисленные изменения реологических функций эритроцитов в группе Б привели к снижению газотранспортного потенциала, что подтверждается достоверным снижением индекса эффективности доставки кислорода к тканям (ТО₂), от аналогичного показателя в группе практически здоровых лиц ($7,84 \pm 0,08$ и $8,19 \pm 0,06$ соответственно) ($p < 0,001$).

Последовательность явлений нарушения гемореологии при данном патологическом состоянии организма можно представить следующим образом. В основе гемодинамических нарушений при АГ лежит повышение общего периферического сосудистого сопротивления, обусловленное гипертонусом микрососудов и вязкостным сопротивлением потока крови. У больных АГ высокое давление часто сочетается с дислипидемией. Увеличение содержания в крови липопротеидов, триглицеридов и общего холестерина, обладающих высокой молекулярной массой, вероятно, способ-

ствуют повышению вязкости плазмы [2]. У больных группы Б, когда вязкость крови увеличена в основном из-за высокой вязкости плазмы, негативное влияние менее выражено по причине того, что деформация эритроцитов в плазме с высокой вязкости увеличена [6]. Это приводит к нейтрализации вредного действия повышенной вязкости крови. Патогенетической основой нарушения цитоархитектоники эритроцитов у этих больных, возможно, является механическое повреждение и изменение концентрации холестерина и фосфолипидов в мембране эритроцита. Холестерин соединяется в мембране эритроцитов с фосфолипидами, откладываясь в виде холестериновых кластеров между листками мембраны и нарушает, прежде всего функцию рецепторов и ферментов. Повышение содержания холестерина способствует уплощению дискоидной формы и сферуляции эритроцитов. Отсутствие нарушения агрегационной активности и повышения вязкости крови на высоких скоростях сдвига, скорее всего, свидетельствуют об адаптивном характере гемореологических перестроек. Несмотря на слабую выраженность нарушения потоковых свойств крови, ее газотранспортный потенциал существенно снижался, однако своеобразное «ослабление» негативных сдвигов реологии крови за счет снижения ригидности эритроцитов, вероятно, является компенсаторной реакцией, призванной сохранить необходимый уровень снабжения тканей кислородом. Повышение давления в артериальном звене гемомикроциркуляторного русла способствовать сохранению капиллярного, тканевого кровотока, нарушенного вследствие спазма артериол и дисфункции механизма последовательного открытия и закрытия капилляров.

На втором этапе исследования нашей задачей было изучение особенностей изменений реологических свойств крови у пациентов кластера А по сравнению с группой Б и группой контроля. Обращают на себя внимание более выраженные изменения гемореологических показателей. Повышение вязкости плазмы крови у больных кластера А было аналогично изменению данного показателя в группе Б и достоверно превышало уровень в контроле. При этом повышение вязкости крови наблюдалось на всех скоростях сдвига и достоверно отличалось от группы Б на высоких скоростях (В-200, 150, 100) ($p < 0,001$). Показатель гематокрита и содержание гемоглобина в крови для кластера А были выше $44,65 \pm 0,53\%$ и

$144,94 \pm 1,74$ г/л, чем в группе Б $41,21 \pm 0,83\%$ и $132,97 \pm 2,76$ г/л ($p < 0,001$) и в контроле $41,15 \pm 0,44\%$ и $136,46 \pm 1,92$ г/л ($p < 0,001$). Анализируя агрегацию эритроцитов выявлено, что больные кластера А имели значительное усиление как быстрого (М(5), М1(5), М(10), М1(10)), так и медленного процесса агрегации (ПА, СРА, ПНА) по сравнению с практически здоровыми лицами и группой Б. Так показатель агрегации (ПА) в среднем составлял $2,01 \pm 0,05$ при $1,47 \pm 0,04$ в контроле и $1,46 \pm 0,04$ в группе Б ($p < 0,001$), а средний размер агрегата (СРА) – $6,32 \pm 0,09$ при $5,55 \pm 0,10$ в контроле и $5,69 \pm 0,14$ в группе Б ($p < 0,001$). При анализе морфологических форм эритроцитов было обнаружено наряду с увеличением клеток со стоматоцитарной трансформацией, повышение доли обратимо деформированных форм, что отразилось снижением числа дискоцитов в крови с $85,83 \pm 1,18\%$ в контрольной группе до $75,45 \pm 1,33$ в кластере А ($p < 0,001$). Обращает на себя внимание отсутствие достоверных отличий от контрольной группы индекса ригидности эритроцитов, что свидетельствует о сохраненной способности эритроцитов к деформации. Газотранспортная функция крови у больных кластера А не имела отличия от группы Б.

Данный этап исследования показал, что для кластера А увеличение вязкости плазмы обусловлено изменением не только липидного спектра, но и белкового состава крови. Повреждающее действие высокого артериального давления на сосудистую стенку, в частности на ее эндотелиальный слой, вызывает ее дисфункцию, проявляющуюся снижением синтеза NO, выработкой провоспалительных и ростовых факторов. Гиперхолестеринемия способствует прогрессированию АГ и атеросклероза путем повышения секреции ряда вазоактивных молекул, подавляющих образование NO. Таким образом, АГ и гиперхолестеринемия, действуя синергично на сосудистую стенку, вызывают функциональные и структурные изменения, приводящие к развитию атеросклероза. Повышение содержания фибриногена, его дериватов и других крупномолекулярных белков приводит к их адсорбции на поверхности мембраны эритроцитов, что обеспечивает образование молекулярных мостиков и формирование эритроцитарных агрегатов [7]. Прирост агрегации в этих условиях приводит к повышению посткапиллярного сопротивления и как следствие способствует транскапиллярному обмену.

Повышение гематокрита и концентрации гемоглобина для кластера А объясняется как активацией эритропоэза, так и снижением объема циркулирующей крови, вследствие пропотевания плазмы из сосудистого русла в интерстициальное пространство [9]. Повышение вязкости крови и на высоких скоростях сдвига (200, 150 и 100 с⁻¹) предположительно связано с увеличенным гематокритом и высокой вязкостью плазмы. Существенных изменений вязкостно-эластичные свойства мембраны, которые определяются, прежде всего, состоянием цитоскелета и других интегральных белков, у больных кластера А не возникает [5]. Кроме того, не происходит существенных нарушений в АТФ-зависимых ионтранспортирующих системах и рН среды, сохраняя тем самым стабильность и механические свойства мембраны. Наблюдаемое увеличение числа обратимо деформированных форм клеток вероятно связано с адсорбцией на поверхности мембраны белков плазмы и накоплением холестерина в мембранах эритроцитов. Повышение доли эритроцитов с переходной формой не рассматривается как тяжелое патологическое изменение. Эти клетки сохраняют общую дискоидную структуру и при определенных благоприятных условиях могут претерпевать обратный переход в дискоциты.

Таким образом, выделение ряда пациентов с АГ в кластер А связано с перестройкой функциональных гемореологических связей обеспечивающих гомеостаз, а именно изменением белкового и липидного состава плазмы и увеличение содержания эритро-

цитов без грубых нарушений структурной организации мембран красных клеток крови. При истощении дилатационного резерва сосудов, что имеет место при АГ, повышенное артериальное давление и перечисленные выше гемореологические перестройки во многом определяют эффективность кровотока в тканях.

Третий этап исследования – проведение кластерного анализа в комплексе с корреляционным [4] позволяет подтвердить разный набор функциональных связей обеспечивающих гомеостаз в изучаемых группах и кластере. В результате проведенного исследования были выявлены альтернативные изменения корреляционных матриц для группы Б и кластера А. В кластере А отмечалось снижение количества сильных отрицательных связей в кластере А (коэффициент асимметрии – 1,0, за счет увеличения доли слабых корреляционных взаимоотношений (эксцесс – 1,08). Изменения в кластере А на наш взгляд могут быть связаны с проявлением дестабилизации механизмов авторегуляции гемореологических параметров.

В группе Б наоборот отмечался рост числа достоверных связей (эксцесс – 0,09, в контрольной группе – 0,72) без роста асимметрии распределения (коэффициент асимметрии – 0,53, в контрольной группе – 0,57) Увеличение корреляций в группе Б, на наш взгляд, может свидетельствовать о системообразующей роли АГ по отношению к системе гемореологических параметров крови, приводящей к мобилизации дополнительных механизмов регуляции реологических показателей крови (рис. 1).

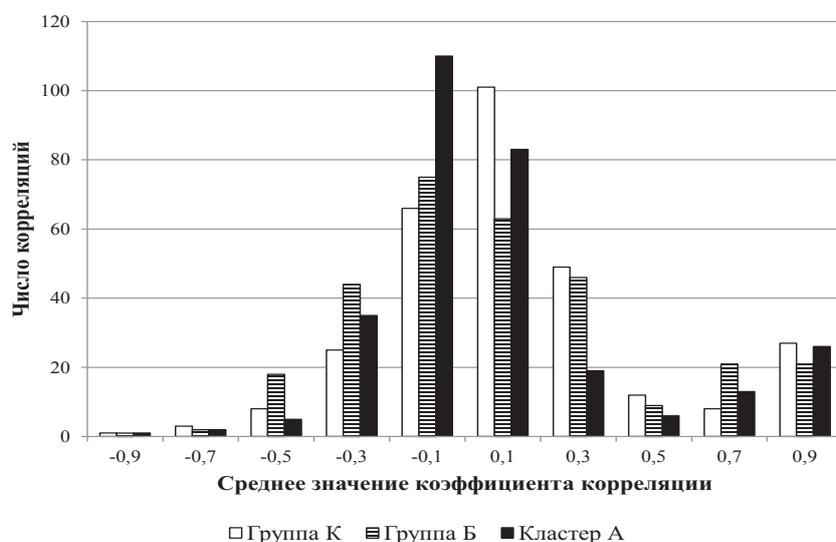


Рис. 1. Гистограмма количества коэффициентов ранговой корреляции Спирмена

Изучение организации и функционирования биологических систем может потребовать выявления и изучение взаимосвязей между их ключевыми элементами [5]. Для выявления особенностей взаимоотношений параметров в кластере А и группе Б, в отличие от контрольной группы нами были построены корреляционные

плеяды (рис. 2). Часть корреляций являющихся общими для всех изучаемых групп была вынесена в отдельную диаграмму (рис. 2А). Последние, на наш взгляд, связаны с физическими законами, определяющими изучаемые параметры. На рис. 2Б представлены связи характерные для группы контроля.

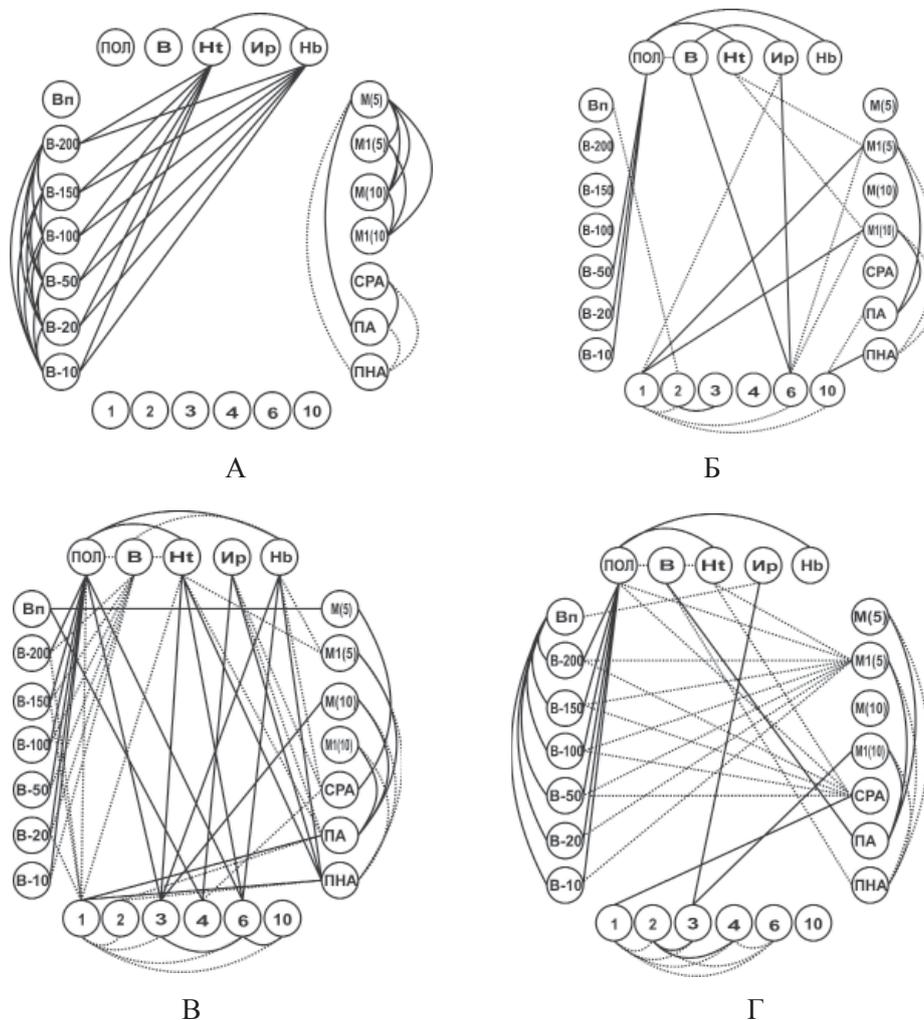


Рис. 2. Корреляционные плеяды.

2А – корреляционные связи общие для всех изучаемых групп;

2Б – корреляционные плеяды контрольной группы; 2В – корреляционные плеяды группы Б;

2Г – корреляционные плеяды кластера А

Достоверные положительные связи обозначены непрерывной линией.

Достоверные отрицательные связи обозначены пунктирной линией

ПОЛ – пол пациентов. В – возраст пациентов. Нт – гематокрит. Ир – индекс ригидности. Нб – гемоглобин. Вп – вязкость плазмы. В – 200, В – 150, В – 100, В – 50, В – 20, В – 10 – вязкость крови при соответствующей скорости сдвига в секундах s^{-1} . М (5), М1 (5), М10 и М1 (10) – показатели агрегации эритроцитов при стазе и скорости сдвига $3 s^{-1}$, через 5 и 10 секунд, соответственно. СРА –

средний размер агрегата, ПА – показатель агрегации, ПНА – процент неагрегированных эритроцитов. 1 – дискоциты, 2 – эритроциты с одним выростом, 3 – эритроциты с гребнем, 4 – эхиноциты, 6 – стоматоциты, 10 – предгемолитические формы.

Для группы Б и кластера А характерны разные корреляционные плеяды «подключающиеся» в этих группах по сравнению

с контролем. Так, в кластере А возникают многочисленные отрицательные корреляционные взаимосвязи между показателями вязкости крови и показателями агрегации, в то время как в группе Б эти две группы параметров разобщены. Кроме этого большое влияние на все варианты вязкости крови оказывает вязкость плазмы.

В тоже время в группе Б появляется достоверная корреляционная связь между возрастом и вязкостными показателями крови, отсутствующая в кластере А. Также ведут себя взаимосвязи между концентрацией гемоглобина и показателями агрегации и формы эритроцитов, между гематокритом и деформированными формами эритроцитов, между индексом ригидности и средним размером агрегата, показателем агрегации и процентом неагрегированных эритроцитов, отсутствующие в контрольной группе. Таким образом, в кластере А, плеяда различных вариантов деформаций эритроцитов, фактически «выключается» из общего массива корреляций, оказываясь связанной только с некоторыми показателями агрегации эритроцитов.

Заключение

Таким образом, при помощи кластерного и корреляционного анализа были выявлены альтернативные варианты реологии крови у пациентов с эссенциальной АГ. Определены гемореологические маркеры, характеризующие каждый вариант адаптации, такие как повышение вязкости плазмы и снижение индекса ригидности – для группы Б и повышение вязкости плазмы и усиление процессов агрегации и доли обратимо трансформированных эритроцитов – для кластера А. Выявлены функциональные

взаимосвязи вязкости крови с возрастом пациентов для группы Б, и между показателями вязкости крови и показателями агрегации для кластера А.

Список литературы

1. Абрашкина Е.Д., Шаалали Н., Пахрова О.А., Шутимова Е.А., Назарова О.А. Влияние аторвастатина на гемореологические параметры больных артериальной гипертензией с дислипидемией // Кардиология. – 2010. – Т.50, №5. – С.25-28.
2. Галенок В.А., Гостинская Е.В., Диккер В.Е. Гемореология при нарушениях углеводного обмена. – Новосибирск, 1987.
3. Криштоп В.В. Кластерный анализ как метод комплексной оценки в сравнительной характеристике влияния статической и динамической нагрузки на сосудисто-паренхиматозные отношения в щитовидной железе // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 4. – С. 31-32.
4. Криштоп В.В. Оценка морфометрических характеристик структурно-функциональных элементов щитовидной железы при влиянии динамической и статической физических нагрузок с применением комплекса статистических методик // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 5. – С. 26-30.
5. Криштоп В.В. Сравнительная морфофункциональная характеристика щитовидной железы в условиях динамической и статической физических нагрузок // Морфология. – 2007. – Т. 131, № 1. – С. 49-53.
6. Муравьев А.В., Ройтман Е.В., Тихомирова И.А., Муравьев А.А., Булаева С.В., Михайлов П.В. Деформируемость эритроцитов: основные механизмы срочной адаптации // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2013. – № 3(55). – С. 4-17.
7. Пахрова О.А., Гринева М.Р., Иванов С.К. Методология и клиническое значение исследования реологических свойств крови // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2008. – Т.13, №1-2. – С. 89-95.
8. Сариева Э.М. Клинико-инструментальная характеристика и факторы риска формирования эссенциальной артериальной гипертензии у подростков: автореф. дисс. ... канд. мед. наук ГБОУ ВПО «Ставропольская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Ставрополь, 2011. – 24 с.
9. Annapurua V., Puniyani R.R., Gupta R.V. Red cell deformability and erythrocyte lipids in hypertension // Clin. Hemorheol. – 1990. – Vol. 10. – P. 95-101.
10. Combined effects of systolic blood pressure and serum cholesterol on cardiovascular mortality in young (< 55 years) men and women / F. Thomas, K. Beah, L. Guize et al. // Eur Heart J. – 2002. – Vol.23. – P. 528-35.