

ВНУТРЕННИЕ БОЛЕЗНИ

УДК 616-036.8

ОЦЕНКА АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ И ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ У ПАЦИЕНТОВ, ПЕРЕНЕСШИХ АОРТОКОРОНАРНОЕ ШУНТИРОВАНИЕ

В.И. Рузов¹, Л.Г. Комарова¹, М.В. Крестьянинов², Е.В. Щипанова²,
Л.Т. Низамова¹

¹Ульяновский государственный университет,

²Ульяновский областной госпиталь ветеранов войн

Целью исследования было изучение агрегации тромбоцитов и процессов перекисного окисления липидов у пациентов с ишемической болезнью сердца, перенесших и не перенесших реваскуляризацию миокарда (аортокоронарное шунтирование (АКШ)). Обследовано 128 пациентов (82 чел. – после АКШ давностью 1-10 лет, 46 чел. – со стабильной стенокардией напряжения II-III ФК длительностью 1-10 лет), получающих статины, иАПФ и β-блокаторы в среднетерапевтических дозировках. Установлены более высокие значения спонтанной агрегации тромбоцитов у пациентов с давностью коронарной реваскуляризации менее 5 лет и одновременно низкие значения индуцированной АДФ агрегации тромбоцитов в этой группе.

У пациентов без реваскуляризации миокарда наблюдались высокие значения индуцированной агрегации тромбоцитов, что свидетельствует о наличии высокого тромбогенного потенциала у данной категории пациентов.

Ключевые слова: адгезия тромбоцитов, перекисное окисление липидов, каталаза, супероксиддисмутаза, малоновый диальдегид.

Введение. В многочисленных исследованиях была доказана роль активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) на фоне снижения активности антиоксидантных ферментных систем при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда [8]. Метаболические нарушения и свободнорадикальные процессы являются основными патогенетическим факторами при развитии дисфункции миокарда во время коронарного шунтирования [3].

Большое значение при ишемии и реперфузии миокарда придается активации процессов ПОЛ [6], регуляцию которых в организме осуществляет система антиоксидантной защиты с участием антиоксидантных ферментов [11]. Оксидативный стресс, поддерживаемый местной выработкой активных форм кислорода, часто сопутствует воспалению, так

как провоспалительные цитокины стимулируют выработку прооксидантов (супероксидамиона, хлорнаватистой кислоты) [15].

В ремоделировании сосудистой стенки большое значение придается связи ПОЛ и активации тромбоцитов [5]. Изменение числа и функциональной активности тромбоцитов сопровождается выделением вазоактивных субстанций, вызывающих локальный ангиоспазм и увеличивающих агрегацию тромбоцитов, что в свою очередь повышает риск развития тромбозов. При этом ряд авторов отмечает наличие тесной корреляции степени спонтанной и индуцированной агрегации тромбоцитов с гипертрофией миокарда и эпизодами безболевой ишемии миокарда [10].

Известно, что при дислипидемии увеличивается чувствительность тромбоцитов к индукторам агрегации и повышается их сек-

реторная активность. Увеличение содержания общего холестерина (ОХС), липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) при гиперхолестеринемии вызывает патологическое усиление выделения тромбоксана А2 с повышением агрегабельности тромбоцитов. Это связано с наличием на поверхности тромбоцитов рецепторов липопротеинов апо-В и апо-Е. С другой стороны, липопротеины высокой плотности (ЛПВП) снижают продукцию тромбоксана, ингибируя агрегацию тромбоцитов, за счет связывания со специфическими рецепторами. По мнению В.И. Волкова и соавт., нарушения липидного обмена не только повышают агрегационную активность тромбоцитов, но и снижают эффективность антитромбоцитарной терапии, а тромбоциты, в свою очередь, являются важным звеном процесса атерогенеза, и их функции уже нарушаются при наличии факторов кардиоваскулярного риска [4]. Одновременно при атеросклерозе наблюдаются региональные и системные изменения реологических свойств крови за счет повышения агрегационной и адгезивной активности тромбоцитов, активации плазменных коагулационных факторов, что сопровождается истощением активности антикоагулянтных компонентов крови и угнетением фибринолиза [7].

В литературе наиболее полно представлены данные, касающиеся взаимодействия процессов ПОЛ и активности антиоксидантных ферментов при острых формах ИБС [6], и недостаточно изучено состояние системы ПОЛ и антиоксидантной защиты у больных после аортокоронарного шунтирования (АКШ).

Цель исследования. Изучение агрегации тромбоцитов и перекисного окисления липидов у пациентов с ишемической болезнью сердца после аортокоронарного шунтирования.

Материалы и методы. Обследовано 128 пациентов обоего пола в возрасте 49–59 лет с ишемической болезнью сердца: 82 пациента с различной давностью аортокоронарного шунтирования, средний возраст которых составил 57 лет (1 группа), и 46 пациентов со стабильной стенокардией напряжения II–III ФК с различной длительностью анамнеза (2 группа). Все пациенты на момент обсле-

дования получали статины, антиагреганты, ингибиторы ИАПФ и β -блокаторы в средних терапевтических дозировках. В качестве антиагрегантов пациенты первой группы получали аспирин и клопидогрель в течение 2 лет после операции, а затем только аспирин, а пациенты 2-й группы – только аспирин.

Определение липидного профиля крови осуществлялось акустическим методом на компьютеризированном акустическом аппарате «АКБФ – 01 БИОМ».

Методы оценки функции тромбоцитов. Исследование агрегации тромбоцитов проводили на двухканальном лазерном анализаторе агрегации 230LA (НПФ «БИОЛА», Россия) на основании световой агрегатометрии [14]. Для спонтанной агрегации ее степень определяли как максимальное значение среднего размера агрегатов и измеряли в относительных единицах. Для индуцированной агрегации ее степень определяли как максимальное приращение светопропускания после добавления индуктора и измеряли в процентах.

В качестве индуктора агрегации использовали аденоzinидифосфат (АДФ) в конечной концентрации 5,0 мкМ (спонтанная) (норма 1,0–1,8 отн. ед.), 0,1 мкМ АДФ (норма 1,0–2,4 отн. ед.), 1,0 мкМ АДФ (норма 1,5–5,5 отн. ед.), 5,0 мкМ АДФ (норма 25–75 %).

Оценка антиоксидантной системы проводилась по концентрации каталазы в эритроцитах плазмы крови и супероксиддисмутазы (СОД). Интенсивность ПОЛ оценивалась по содержанию МДА в эритроцитах и плазме крови по методу Л.И. Андреевой и соавт. [1].

Статистическая обработка полученных результатов производилась в программном пакете Statistica 8.0 (StatSoft Inc.). Результаты представлены в виде M (SD); CI 95 % для признаков, имеющих нормальное распределение, и в виде Me ($q25$; $q75$) для признаков с распределением, отличным от нормального. Сравнение независимых признаков проводилось с использованием критерия Mann–Whitney. Проверка статистической гипотезы об отсутствии корреляции между двумя количественными признаками проводилась с помощью критерия Spearman. Результаты статистической обработки данных считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Характеристика больных, включенных в исследование, представлена в табл. 1.

Таблица 1

Показатели агрегации тромбоцитов и липидного профиля у пациентов, перенесших АКШ, и больных стенокардией напряжения I-II ФК (Ме; СІ 95 %)

Параметры	Пациенты с ИБС, перенесшие АКШ, n=82	Пациенты со стабильной стенокардией напряжения II-III ФК, n=46	U	Z	p
Спонтанная агрегация, у.е.	1,61 (1,83; 11,53)	1,25 (1,33; 1,73)	1172,500	2,37990	0,017
0,1 мкМ АДФ	2,0 (2,04; 2,42)	2,69 (2,55; 3,59)	1093,000	-2,48021	0,013
1,0 мкМ АДФ	15,5 (2,74; 3,44)	3,95 (3,08; 8,59)	1109,500	-2,38437	0,017
5,0 мкМ АДФ	15,5 (14,1; 20,27)	40,24 (33,79; 46,69)	557,500	-5,64556	<0,0001
ОХС, ммоль/л	4,67 (4,5; 5,13)	6,18 (4,92; 6,54)	458,000	-2,85590	0,004
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,00 (1,05; 1,2)	1,37 (0,62; 3,59)	303,500	-3,37749	0,0007
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,80 (2,67; 3,23)	4,38 (3,62; 5,15)	291,500	-3,50162	0,0004
Триглицериды, ммоль/л	1,68 (1,67; 2,12)	1,85 (1,37; 2,32)	592,000	0,03211	0,974
Коэффициент атерогенности	3,15 (2,95; 3,69)	4,31 (3,02; 4,65)	466,500	-1,22500	0,22

Как видно из представленной таблицы, атерогенные сдвиги характеризовалась менее выраженным нарушениями у пациентов с АКШ, особенно в отношении уровней общего холестерина и ХС ЛПНП.

Оценка индуцированной агрегации тромбоцитов выявила более низкие значения в группе пациентов, перенесших АКШ, независимо от концентрации индуктора. Показатели спонтанной агрегации тромбоцитов (табл. 1) характеризовались наличием более высоких значений у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование. Аналогичные изме-

нения спонтанной агрегации тромбоцитов выявлены Л.И. Бурячковской с соавт. [9]. По мнению авторов, наличие повышенной спонтанной агрегации тромбоцитов на фоне снижения индуцированной агрегации обусловлено большим влиянием антиагрегантов на АДФ-индуцированную и в меньшей степени – на спонтанную агрегацию тромбоцитов [9].

Сравнение показателей перекисного окисления липидов и маркеров антиоксидантной защиты выявило более высокие уровни СОД и уровня МДА эритроцитов у пациентов, перенесших АКШ (табл. 2).

Таблица 2

Сравнительный анализ показателей агрегации тромбоцитов и ПОЛ (Ме; СІ 95 %)

Параметры	I группа, n=82	II группа, n=46	U	Z	p
Каталаза Er, ммоль/(мин·л)	62,99 (77,36; 113,0)	52,49 (71,44; 124,66)	1579,000	0,18733	0,851
Каталаза плазмы, ммоль/(мин·л)	5,89 (5,96; 10,23)	6,0 (4,94; 7,92)	1403,000	0,24157	0,809
СОД, у.е.	4,98 (5,46; 7,34)	1,15 (1,33; 2,73)	392,500	7,11489	<0,0001
МДА Er, мкмоль/л	423,07 (434,34; 531,86)	406,13 (345,54; 472,8)	1228,500	2,14725	0,032
МДА плазмы, мкмоль/л	6,75 (5,8; 7,45)	4,96 (4,18; 34,29)	1351,000	1,46226	0,144

Повышение активации СОД можно рассматривать как компенсаторное в ответ на увеличение продукции активных форм кислорода [12]. Следует отметить отсутствие различий по уровням каталазы эритроцитов и плазмы, а также по уровню МДА плазмы между группами пациентов. Проведенный корреляционный анализ у пациентов с АКШ не выявил связей показателей агрегации тромбоцитов с перекисным окислением липидов в отличие от пациентов со стабильной стенокардией напряжения II–III ФК, не подвергнутых коронарной реваскуляризации, у которых выявлена умеренная по силе отрицательная корреляция между индуцированной

1,0 мкмоль АДФ агрегацией тромбоцитов и МДА эритроцитов ($r=-0,41$; $p=0,031$). Обращает на себя внимание наличие обратной связи между давностью проведенной реваскуляризации и спонтанной агрегацией тромбоцитов ($r=-0,31$; $p=0,0056$), которая характеризуется меньшими значениями спонтанной агрегации на более длительных сроках.

Сравнение показателей агрегации тромбоцитов и перекисного окисления липидов (табл. 3) у пациентов с давностью АКШ до и более 5 лет показало максимальные значения спонтанной агрегации при длительности периода после коронарной реваскуляризации менее 5 лет.

Таблица 3

Сравнение показателей агрегации тромбоцитов и ПОЛ у пациентов, перенесших АКШ, в зависимости от времени после операции (M (SD) – для признаков, имеющих нормальное распределение, Me – для признаков, имеющих распределение, отличное от нормального)

Параметры	Менее 5 лет	Более 5 лет	U	Z	p
Спонтанная агрегация, у.е.	7,28	1,30	138,0000	2,40563	0,016
0,1 мкМ АДФ	2,23	2,25	252,5000	0,33005	0,741
1,0 мкМ АДФ	3,07	3,29	229,5000	-0,71934	0,472
5,0 мкМ АДФ	17,08	18,09	262,0000	-0,23372	0,815
Каталаза Ег, ммоль/(мин·л)	99,60	62,75	220,5000	1,24725	0,212
Каталаза плазмы, ммоль/(мин·л)	8,65	4,08	197,5000	1,57111	0,116
СОД, у.е.	6,35	6,74	290,0000	0,11413	0,909
МДА Ег, мкмоль/л	481,51	494,76	292,5000	-0,07337	0,942
ОХС, ммоль/л	4,77	5,20	213,0000	-0,64608	0,518
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,13	1,10	200,0000	0,88606	0,376
ХС ЛПНП, ммоль/л	2,90	3,35	228,0000	-0,36919	0,712
Триглицериды, ммоль/л	1,86	2,15	196,5000	-0,95067	0,342
Коэффициент атерогенности	3,22	4,11	136,0000	-1,97961	0,048
			t		p
МДА плазмы, мкмоль/л	6,47 (3,61)	7,79 (3,34)	-1,03442		0,304

Повышение способности тромбоцитов спонтанно агрегировать, по мнению Л.И. Буряковской и соавт., характерно для воспаления, что косвенно позволяет предположить наличие повышенной цитокиновой активности у этой группы пациентов [9]. В то же

время статистически значимых различий активности процессов ПОЛ обнаружено не было, что косвенно свидетельствует об отсутствии прямой связи между выраженностью ПОЛ и агрегацией тромбоцитов. Обращает на себя внимание наличие более выраженных

атерогенных сдвигов у пациентов с длительностью реваскуляризации выше 5 лет, характеризующихся высокими значениями коэффициента атерогенности, что может свидетельствовать о неудовлетворительной коррекции дислипидемии.

Результаты исследования свидетельствуют о различной направленности и характере агрегации тромбоцитов у пациентов, перенесших и не перенесших АКШ. Так, применение двойной антиагрегантной терапии сопровождается подавлением АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с АКШ. Одновременно с этим у данной категории пациентов наблюдались и более высокие значения спонтанной агрегации тромбоцитов. Причиной повышенной спонтанной агрегации тромбоцитов у пациентов, перенесших АКШ, является системное воспаление, а также большее количество и/или большая активность альфа-2-адренорецепторов тромбоцитов. Более низкие значения АДФ-индуцированной агрегации у пациентов с реваскуляризацией миокарда объясняются применением двойной антиагрегантной терапии.

Повышение активности прооксидантного (МДА) и антиоксидантного ферментов (СОД) у пациентов с АКШ свидетельствует об активации процессов перикисного окисления, которое уравновешивается активностью антиоксидантной системы. При этом следует отметить, что активированы только внутриклеточные процессы, а в плазме их активность не проявляется, о чем свидетельствует отсутствие различий по МДА и каталазе плазмы между пациентами с АКШ и ХИБС. Одновременно следует отметить наличие более высокого атерогенного потенциала у пациентов со стенокардией напряжения II–III ФК по сравнению с пациентами, перенесшими АКШ, что может свидетельствовать о недостаточной дозировке гиполипидемических препаратов или нерегулярности их приема. Очевидно, что пациенты, перенесшие АКШ, отличаются большей приверженностью к лечению. Увеличение сроков после коронарной реваскуляризации характеризуется нарастанием атерогенных сдвигов в виде увеличения коэффициента атерогенности ($p=0,048$). Нарастание атерогенных сдвигов на фоне со-

хранения низкой активности процессов ПОЛ и агрегации тромбоцитов косвенно свидетельствует об отсутствии прямой взаимосвязи между атерогенными сдвигами, свободнорадикальными процессами и агрегацией тромбоцитов, что требует дальнейшего исследования.

Одновременно следует отметить выявленные в ходе исследования более высокие значения про- и противооксидантных маркеров (СОД и МДА) у пациентов с АКШ, которые свидетельствуют об оксидативном стрессе несмотря на давность коронарной реваскуляризации. В отличие от пациентов с АКШ при стенокардии напряжения II–III ФК выявлена умеренная по силе отрицательная корреляционная связь между АДФ-индуцированной агрегацией тромбоцитов в низкой концентрации (1,0 мкМ) и ПОЛ. Известно, что использование низких концентраций агонистов агрегации позволяет определять тот минимальный их порог, на который реагируют исследуемые тромбоциты. Чем ниже порог, тем значительнее несклонность тромбоцитов к тромбообразованию [2]. Способность тромбоцитов к агрегации в значительной степени зависит и от состояния рецепторного аппарата клетки, эндотелиальной стенки сосудов. При этом между эндотелием сосудов и тромбоцитами существует гомеостатический баланс, препятствующий отложению тромбоцитов на стенке сосудов [13].

Выводы:

1. Двойная антиагрегантная терапия сопровождается снижением АДФ-индуцированной и спонтанной агрегации тромбоцитов у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование.
2. Спонтанная агрегация тромбоцитов отрицательно коррелирует с давностью коронарной реваскуляризации.
3. Максимальная выраженность спонтанной агрегации тромбоцитов наблюдается в период менее пяти лет от момента проведения коронарной реваскуляризации.
4. В течение первых пяти лет после аортокоронарного шунтирования у пациентов наблюдается высокий уровень про- и противооксидантных ферментов (МДА и СОД).

1. *Андреева Л. И.* Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. *Баркаган З. С.* Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза / З. С. Баркаган, А. П. Мамот. – М. : Никдиамед, 2008. – 289 с.
3. Биохимическая оценка повреждения миокарда после операций аортокоронарного шунтирования / Г. А. Цветовская [и др.] // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2001. – № 4. – С. 37–42.
4. *Волков В. И.* Статины при остром коронарном синдроме / В. И. Волков, В. И. Страна // Медицина неотложных состояний. – 2007. – № 3 (10).
5. *Гальченко О. Е.* Комплексная оценка тромбоцитарного гемостаза, гемореологии, прооксидантной и антиоксидантной систем в прогнозировании течения ИБС : автореф. дис. ... канд. мед. наук / О. Е. Гальченко. – Волгоград, 2007. – 22 с.
6. *Закирова А. Н.* Роль перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и реологических нарушений в развитии ИБС / А. Н. Закирова, Н. Э. Закирова // Российский кардиологический журнал. – 2006. – № 2. – С. 53–60.
7. *Кудлай О. А.* Особенности функционального состояния тромбоцитов у больных хронической ишемической болезнью сердца с эссенциальной артериальной гипертензией различной степени в сочетании с гиперхолестеринемией и на фоне применения статинов : автореф. дис. ... канд. мед. наук / О. А. Кудлай. – СПб., 2012. – 25 с.
8. *Пархоменко А. Н.* Феномен невосстановленного кровотока у больных с острым коронарным синдромом и возможные пути улучшения тканевой перфузии / А. Н. Пархоменко // Укр. кард. журн. – 2007. – № 5.
9. Противовоспалительное действие клопидогреля при атеросклерозе / Л. И. Бурячковская [и др.] // Рациональная фармакотерапия и кардиология. – 2011. – № 7. – С. 677–684.
10. *Рязанов А. С.* Состояние агрегации тромбоцитов у больных гипертрофической кардиомиопатией / А. С. Рязанов, З. А. Габбасов, А. П. Юрьев // Терапевтический архив. – 2000. – № 8. – С. 36–38.
11. Свободорадикальные процессы в норме и при заболеваниях сердечно-сосудистой системы / В. З. Ланкин [и др.] // Кардиология. – 2000. – № 7. – С. 48–61.
12. *Украинцева Д. П.* Особенности поражения сердца и окислительной модификации липидов при артериальной гипертонии у пожилых лиц : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Д. Н. Украинцева. – М., 2009. – 22 с.
13. *Хайруллина С. Г.* Динамика изменения агрегации тромбоцитов при применении ацетилсалциловой кислоты в малых дозах у больных с нестабильной стенокранией и острым инфарктом миокарда : дис. ... канд. мед. наук / С. Г. Хайруллина. – Казань, 2005. – 121 с.
14. *Born G. V. R.* Quantitative investigation into the aggregation of blood platelets / G. V. R. Born // J. Physiol. – 1962. – Vol. 162. – P. 67–68.
15. *Libby P.* Clinical implications of inflammation for cardiovascular primary prevention / P. Libby, F. Crea // Eur. Heart J. – 2010. – № 31. – P. 777–783.

EVALUATION OF THROMBOCYTES AGGREGATION AND LIPID PEROXIDATION IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE WITH BYPASS SURGERY IN HISTORY

V.I. Ruzov¹, L.G. Komarova¹, M.V. Krestjyaninov², E.V. Stchipanova¹, L.T. Nizamova¹

¹*Ulyanovsk State University,*

²*Ulyanovsk regional war veterans hospital*

The purpose of our study is to investigation of thrombocytes aggregation and lipid peroxidation in patients with ischemic heart disease with bypass surgery in history and without it. Were enrolled 128 patients: 82 patients with bypass surgery in period from 1 to 10 years; 46 patients with stable ischemic disease 2–3 functional class. All patients got statins, ACE inhibitors and beta-blockers. In group of patients with history of bypass surgery more then 5 years levels of spontaneous thrombocytes aggregation were the highest and levels of ADP induced thrombocytes aggregation were lower then in group of patients with bypass surgery history less then 5 years. In persons without bypass surgery in history were observed high levels of thrombocytes aggregation which can evidence of high thrombogenic potential in such patients.

Keywords: thrombocytes aggregation, lipid peroxidation, catalase, superoxide dismutase, malondialdehyde.