

УДК 616.127-005.8-07.616.151.5.547.915

МЕДИЦИНА

Н. Г. Епископян

**Срыв ауторегуляторного механизма рефрактерности тромбоцитов
 как один из факторов развития их дисфункции
 при остром инфаркте**

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР Г. О. Бадалянном 22/III 1988)

Известно, что в происхождении ишемической болезни сердца (ИБС) определенную роль играет увеличение адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов, их повышенная склонность к образованию агрегатов не только при повреждениях сосудистого эндотелия, но и в общем кровотоке (¹), что может, с одной стороны, частично или полностью блокировать коронарные сосуды, особенно в местах их атеросклеротических поражений (²), с другой — при образовании агрегатов высвобождать вазоконстрикторные соединения, способствующие развитию коронароспазма (³).

Тромбоциты крови больных находятся в частично стимулированном состоянии при ИБС и немедленно реагируют при воздействии индуктора, с образованием крупных агрегатов (⁴). Установлена роль микрогемореологических расстройств в происхождении ИБС, обусловленная нарушениями тромбоцитарного звена системы регуляции агрегатного состояния крови (РАСК) (⁵). Показано, что в крови больных острым инфарктом миокарда (ОИМ) параллельно с повышением агрегационной активности тромбоцитов наблюдается понижение их дезагрегационной способности (⁶).

С процессом агрегации тромбоцитов тесно сопряжена реакция высвобождения, которая представляет собой избирательное высвобождение из агрегированных тромбоцитов эндогенных соединений, сосредоточенных в их гранулах.

Все увеличивающееся число данных свидетельствует о том, что в регуляции функциональной активности тромбоцитов важное значение имеет и их способность переходить в состояние рефрактерности. Установлено, что при повторных воздействиях АДФ чувствительность тромбоцитов к индуктору снижается (⁷). Функциональная активность тромбоцитов, в частности их способность агрегировать, существенно уменьшается в ходе преинкубации с АДФ (⁸). Одновременно указанными авторами выявлено, что при добавлении высоких концентраций АДФ в плазму, содержащей тромбоциты, наблюдается отчетливая убыль количества АДФ в диапазоне от 2 до 40 мин. Предполагалось, что постепенная убыль АДФ является причиной уменьшения агрегационной активности тромбоцитов, однако расчеты показали, что количества ос-

тавшейся после преникубации АДФ достаточно для индукции агрегации тромбоцитов. Следовательно, убыль концентрации АДФ в плазме не может быть решающей и единственной причиной снижения агрегационной активности тромбоцитов. Другое объяснение рефрактерности — появление в плазме, наряду с уменьшением уровня АДФ, продуктов деградации, причем особая роль отводится АМФ и аденозину, которые обладают антиагрегантным действием (9, 10). Однако, как показали исследования ряда авторов, развитие рефрактерности тромбоцитов не может быть в полной степени объяснимо и как следствие образования из АДФ аденозина и АМФ (8, 11).

Впервые Розенберг и Холмсен (12) выдвинули представление о существовании рефрактерности тромбоцитов крови человека по отношению к АДФ, получившее свое подтверждение в экспериментальных работах отечественных исследователей (8, 13). Под рефрактерностью подразумевается способность тромбоцитов при взаимодействии с АДФ переходить в качественно иное (рефрактерное) состояние, характеризующееся понижением агрегационной способности, что не может быть полностью объяснимо ни исчезновением из плазмы индуцирующего агрегацию агента, ни ингибированием реакции агрегации образующимися антиагрегантами.

Отсутствие данных относительно проявлений феномена рефрактерности со стороны тромбоцитов крови больных ОИМ предопределило цель настоящего исследования: изучить явление рефрактерности тромбоцитов крови больных ОИМ, с определением роли АДФ и продукта ее превращения — АМФ в происхождении указанного феномена.

Исследовали агрегационную активность тромбоцитов крови больных ОИМ (1—3 сутки). Из 25 обследованных больных у 20 был диагностирован крупноочаговый инфаркт, у 5 — мелкоочаговый. Средний возраст больных составлял 51 года. В качестве контроля использовали кровь 20 практически здоровых лиц (доноров).

Кровь забиралась венепункцией из локтевой вены, стабилизировалась 3,8%-ным раствором цитрата натрия в соотношении 1:9, centrifугировалась в течение 10 мин при 1000 об/мин. Богатая тромбоцитами плазма (БТП) индуцировалась АДФ в конечной концентрации 10^{-7} моль. Агрегацию тромбоцитов определяли по Борну (14). При анализе агрегограмм оценивались следующие величины: максимальная агрегация тромбоцитов (t_{max}), время максимальной агрегации (t_{maxa}), средняя скорость агрегации (Δa), максимальная дезагрегация (t_{mda}), время максимальной дезагрегации (t_{maxda}), средняя скорость дезагрегации (Δda). При изучении развития феномена рефрактерности тромбоцитов методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Silufol UV — 254» (ЧССР) определялось количественное содержание адениновых нуклеотидов (15). Сканирование пластины проводили на сканирующей приставке флуоресцентного спектрофотометра MRF-4 «Hitachi» (Япония), присоединенной к флуоресцентному спектрофотометру MRF-2 той же фирмы. Полученный материал был подвергнут статистической обработке с оценкой достоверности по критерию Стьюдента.

Исходя из поставленных задач в исследованиях использовали два

методических приема: в первом случае АДФ в конечной концентрации 10^{-7} моль добавляли к БТП в условиях ее размешивания, с регистрацией процесса агрегации и последующей дезагрегации тромбоцитов; во втором БТП предварительно преинкубировали с АДФ (10^{-7} моль) без размешивания и мешалка включалась с 10-минутным запаздыванием.

Полученные данные показали, что в условиях стандартного изучения АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов крови практически здоровых лиц (та) составляет $27,4 \pm 4,0\%$ (таблица). При 10-минутной задержке размешивания БТП эта величина заметно снижается, доходя до $4,0 \pm 0,2\%$. Указанный факт свидетельствует о резком уменьшении чувствительности тромбоцитов крови к АДФ, поскольку агрегационная активность понижается на 85,4%.

Интересными оказались данные, полученные при изучении развития рефрактерности тромбоцитов к АДФ у больных ОИМ. Установлено, что та тромбоцитов крови больных, составляя $50,0 \pm 3,3\%$, при 10-минутном запаздывании размешивания БТП с АДФ снижается до $20,3 \pm 1,7\%$, следовательно, уменьшается лишь на 60%. Полученные данные свидетельствуют о том, что и тромбоциты крови больных ОИМ проявляют гипочувствительность к АДФ, впадают в состояние рефрактерности, однако выраженность указанного феномена при ОИМ проявляется в меньшей степени, чем в контроле, что указывает на срыв ауторегуляторных механизмов функционирования тромбоцитов.

Для анализа механизмов, лежащих в основе формирования рефрактерности тромбоцитов к АДФ, использовали следующий методический прием. К БТП крови доноров и больных ОИМ в условиях размешивания добавляли АДФ в конечной концентрации 5 мкг/мл и регистрировали процесс агрегации. В момент развития максимальной агрегации тромбоцитов добавляли 6%-ный раствор HClO_4 (2 мл на 1 мл БТП) и в надосадочной жидкости определяли содержание адениновых нуклеотидов. Аналогичные исследования проведены в параллельных пробах, где БТП подвергалась предварительной 10-минутной преинкубации с тем же количеством АДФ, после чего начинался процесс размешивания.

Как показали результаты исследований, в условиях максимальной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов крови доноров на хроматограммах четко выявляются пятна АДФ и АМФ, между тем как АТФ присутствует лишь в следовых количествах и при сканировании пластины не выявляется. Аналогичная в качественном отношении картина была получена и при изучении аденинских нуклеотидов в пробах, предварительно преинкубированных с АДФ. Таким образом, обнаружено, что при добавлении АДФ как в условиях размешивания БТП, так и при 10-минутном интервале между добавлением АДФ и началом размешивания в условиях максимальной агрегации тромбоцитов в пробах выявляется наличие АДФ и АМФ.

Данные количественных определений свидетельствуют, что в условиях максимальной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов крови доноров содержание АДФ в БТП составляет $0,96 \pm 0,05$ мкг/мл, а АМФ — $0,72 \pm 0,04$ мкг/мл. При 10-мин. запаздывании размешивания БТП количество АДФ в последней снижается до $0,62 \pm 0,05$ мкг/мл, а

Сравнительная характеристика рефрактерной реакции тромбоцитов крови больных ОИМ и практически здоровых лиц (АДФ 10^{-7} моль)

Группа	Агрегация			Дезагрегация		
	та, %	tmax, мин	Δt, %/мин	та, %	tmax, мин	Δt, %/мин
В условиях размешивания БТП						
Практически здоровые лица	27.4±4.0	7.0±3.8	4.7±1.7	20.2±4.0	8.3±2.0	2.7±0.4
Больные ОИМ	50.0±3.3	9.7±0.1	5.3±0.3	10.0±4.0	13.0±3.3	1.0±0.3
При 10-минутном запаздывании размешивания БТП						
Практически здоровые лица	4.0±2.0 P < 0.001	14.5±5.0 < 0.05	0.4±0.1 < 0.05	-	-	-
Больные ОИМ	20.3±1.7 P < 0.001	10.8±1.7 > 0.05	1.8±0.1 < 0.05	5.6±1.2 < 0.001	3.5±0.4 > 0.05	1.4±0.2 > 0.05

P—степень достоверности различий между рефрактерными и нерефрактерными тромбоцитами

уровень АДФ возрастает до $0,92 \pm 0,08$ мкг/мл.

Аналогичные исследования, проведенные в отношении тромбоцитов крови больных ОИМ, показали, что на высоте пика их АДФ-индуцированной агрегации в БТП обнаруживается наличие АДФ и АМФ, между тем как АТФ вновь выявляется лишь в виде следов. В указанных условиях содержание АДФ в БТП составляет $1,56 \pm 0,09$ мкг/мл, а АМФ $1,24 \pm 0,8$ мкг/мл. При 10-минутном запаздывании размешивания эти величины составляют соответственно $0,93 \pm 0,05$ и $1,62 \pm 0,08$ мкг/мл. Следовательно, в процессе развития рефрактерности, как и при обычных условиях изучения агрегационной реакции тромбоцитов, в БТП крови больных ОИМ и практически здоровых лиц развиваются однонаправленные изменения содержания АДФ и АМФ. Существующие представления о рефрактерности тромбоцитов как своеобразного, качественно иного состояния клетки, разновидности ауторегуляции, дают основание считать, что при ОИМ одной из причин развития дисфункции тромбоцитов является срыв ауторегуляторного механизма рефрактерной реакции.

Ереванский медицинский институт

Ե. Հ. ԵՂԻՍԿԱՆՅԱՆ

Արտամկանի սուր ինֆարկտի ժամանակ առոմբոցիտների ռեֆրակտիվության ինֆնակարգավորման մեխանիզմի խախտումը որպես պաթոֆիզիոլոգիալ արագացման գործոններից մեկը

Սուր ինֆարկտով հիվանդների մոտ ուսումնասիրվել է արյան առոմբոցիտների ռեֆրակտիվությունը: Բացահայտվել է, որ արտամկանի սուր ինֆարկտի ժամանակ առոմբոցիտների ռեֆրակտիվությունը բացահայտվել է որպես պաթոֆիզիոլոգիալ արագացման գործոններից մեկը

ֆարկաի շրջանում, ինչպես և առողջ մարդկանց մոտ, ԱՂԾ-ի նկատմամբ թրոմբոցիտները ձեռք են բերում ուֆրակտերոթյան հատկություն, որը ինդուկտորի հետ երկարատև փոխազդեցության պայմաններում արտահայտվում է նրանց ԱՂԾ-ի խթանված ագրեգացիայի նվազումով:

Հայտնաբերված է, որ սրտամկանի սուր ինֆարկտով տառապող հիվանդների արյան թրոմբոցիտների ուֆրակտերոթյունը հանդես է գալիս ԱՂԾ-ի զարգանում է համեմատաբար ավելի թույլ, քան թե պրակտիկորեն առողջ մարդկանց մոտ:

Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ թրոմբոցիտների ուֆրակտերոթյան դալգացումը չի կարելի վերագրել ԱՂԾ-ի քայքայմանը և նրա հետ զուգահեռ ընթացող ԱՂԾ-ի կուտակմանը:

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ Н. А. Грацианский, Д. И. Чиквашияли, В. П. Мосенко, Бюлл. ВКНЦ АМН СССР, т. 10, № 2 (1987). ² G. D. Folts, K. Gallagher, G. G. Rowe, *Ibid*, v. 65 (1982). ³ J. Mekle, P. Mehta, *Amer. J. Cardiol.*, v. 48 (1981). ⁴ В. В. Горбачев, А. Б. Самалъ, А. В. Хапалюк, *Лабор. дело*, № 5 (1982). ⁵ В. А. Люсов, Ю. Б. Белоусов, *Тер. архив*, т. 14, № 5 (1981). ⁶ Г. О. Бадалян, И. Г. Епископосян, О. П. Соцкий и др., *Кардиология*, т. 26, № 5 (1983). ⁷ M. C. Rosenberg, H. Holmsen, *Biochim. Biophys. Acta*, v. 155 (1968). ⁸ И. Л. Люсовская, Р. И. Волкова, Е. Я. Позин, *Физиол. журн. СССР*, т. 66, № 3 (1976). ⁹ J. Caen, Y. Sultan, H. Michel, *Acta Med. Scand.*, v. 525 (1971). ¹⁰ A. I. Hellem, *Adv. Intern. Med.* v. 17 (1971). ¹¹ H. Holmsen, M. C. Rosenberg, *Acta, Med. Sc.*, v. 113 (1971). ¹² M. C. Rosenberg, H. Holmsen, *Biochim. Biophys. Acta*, v. 151 (1968). ¹³ И. Р. Волкова, С. А. Королева, И. Л. Люсовская и др., *Физиол. журн. СССР*, т. 60, № 1 (1971). ¹⁴ G. V. R. Born, *Nature*, v. 194 № 9 (1962). ¹⁵ И. В. Зарубин, В. И. Криворученко, *Укр. биохим. журн.*, т. 54 № 4 (1982).