

*И. Н. Медведев*

## **Агрегационная активность тромбоцитов у больных артериальной гипертонией с метаболическим синдромом (трудоспособный возраст)**

Артериальная гипертония (АГ), все чаще поражающая лиц трудоспособного возраста, нередко сочетается с метаболическим синдромом (МС), включающим гиперлипидемию, гиперхолестеринемию, гипертриглицеридемию, абдоминальное ожирение (АО), нарушение толерантности к глюкозе (НТГ) и инсулинорезистентность (ИР) [1, 2]. Нарушения углеводного обмена и изменения в липидном спектре крови при МС часто сопровождаются сдвигами в тромбоцитарном звене гемостаза, способствуют развитию внутрисосудистого тромбообразования, приводя к инвалидизации и высокой смертности среди работающего населения. Однако, особенности нарушения функционального состояния тромбоцитов больных АГ с сопутствующим МС изучены недостаточно. Не исследованы нарушения адгезивной и агрегационной способности тромбоцитов, не выяснена их внутрисосудистая активность. Не определена роль в развитии дисфункции тромбоцитов больных АГ с МС изменений липидного состава их мембран, тромбопластинообразования, пероксидации и антиоксидантной защиты, а также состояния обмена в них арахидоновой кислоты.

Нами проведено исследование особенности нарушения тромбоцитарного звена гемостаза у больных АГ с сопутствующим МС. Под наблюдением находились 25 больных АГ 1–3 степени, риск 1–4, в том числе 4 мужчин и 21 женщина трудоспособного возраста, средний возраст – 44,2±1,5 года (критерии ВОЗ/МОАГ (1999)). Коррекция АГ у больных производилась ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (эналаприл и каптоген) в общепринятых дозах. У больных отмечался кластер метаболического синдрома, состоящий из НТГ, легкой гиперлипидемии II б типа, АО (индекс массы тела более 30 кг/м<sup>2</sup>, отношение объема талии к объему бедер – более 0,85 у женщин и более 1,0 у мужчин). Группу контроля составил 21 здоровый человек аналогичного возраста. Обследование включало определение антропометрических показателей: массы тела, индекса массы тела (ИМТ), окружности талии и бедер, соотношения ОТ/ОБ. Взятие крови производилось после 14-часового голодания. Определяли содержание общего холестерина (ОХС), ХС липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) и триглицеридов (ТГ) энзиматическим колориметрическим методом набором фирмы «Витал Диагностикум», общие липиды (ОЛ) – набором фирмы «Лаксема», АО, БРНО Чешской республики, ХС ЛПНП – рассчитывали по W. Friedwald et al. [14], ХС ЛПОНП по формуле (содержание ТГ/5). Уровень общих фосфолипидов устанавливали по содержанию в них фосфора [8]. Результаты оценивали по критериям атерогенности сыворотки, рекомендованными Национальной программой США по холестерину для взрослых лиц, Европейскими обществами кардиологов, по изучению атеросклероза и гипертонии [11, 14, 15]. Исследование углеводного обмена вклю-

*Медведев Илья Николаевич, заведующий психологической лабораторией КИСО (филиал РГСУ).*

*Окончил Курский государственный медицинский университет. Защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Метаболизм арахидоновой кислоты и агрегация тромбоцитов при старении». Работал врачом-терапевтом в Курском санатории им. И. Д. Черняховского. Защитил докторскую диссертацию на тему: «Нарушения тромбоцитарного гемостаза у больных артериальной гипертонией с метаболическим синдромом и его фармакологическая коррекция». По материалам докторской диссертации подготовил инновационный проект «Диагностика тромбоцитопатии у больных артериальной гипертонией с метаболическим синдромом и способ ее коррекции», занявший 1 место на областном конкурсе.*

*Основные области научных интересов: гематология, кардиология и геронтология.*

*Является автором более 180 печатных работ, 2 монографий и 1 учебного пособия.*

чало определение концентрации глюкозы в крови натощак ортотолуидиновым методом, толерантности больных к глюкозе. Интервал между приемом пищи и тестом составлял 10–12 часов. Активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) плазмы определяли по содержанию ТБК-активных продуктов набором фирмы ООО «Агат-Мед», ацилгидроперекисей (АГП) [4] и антиокислительному потенциалу жидкой части крови [3], а внутритромбоцитарное ПОЛ – по концентрации базального и стимулированного тромбином уровня малонового диальдегида (МДА) в реакции восстановления тиобарбитуровой кислотой [16], в мод. [9] и АГП [4]. Внутритромбоцитарную антиоксидантную систему характеризовали активность каталазы и супероксиддисмутазы (СОД) по [10].

В отмытых и ресуспендированных тромбоцитах определяли содержание холестерина энзиматическим колориметрическим методом набором фирмы «Витал Диагностикум» и фосфолипидов по фосфору [8]. Исследовали также активность и время образования эндогенного тромбoplastина [12]. Для косвенной оценки обмена арахидоновой кислоты в тромбоцитах, а также активности в них циклооксигеназы и тромбосансинтетазы использованы три пробы переноса по методу Т. А. Ермолаевой и соавт. (1992) с регистрацией агрегации тромбоцитов (АТ) на ФЭКе [7]. Производили подсчет количества тромбоцитов в капиллярной крови в камере Горяева и определение адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов (ААТ) при контакте с поверхностью кожной ранки ретенционным методом [5] по А. С. Шитиковой (1999). Агрегационная способность тромбоцитов исследовалась визуальным микрометодом [5] по А. С. Шитиковой с использованием в качестве индукторов АДФ ( $0,5 \cdot 10^{-4}$  М), коллагена (разведение 1:2 основной суспензии), тромбина ( $0,125$  ед./мл), ристомидина ( $0,8$  мг/мл) (НПО «Ренам»), адреналина ( $5 \cdot 10^{-6}$  М, завод Гедеон Рихтер А.О.) и перекиси водорода ( $7,3 \cdot 10^{-3}$  М), а также сочетания АДФ и адреналина, АДФ и коллагена, адреналина и коллагена для моделирования реальных условий кровотока. Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты представлены в виде  $M \pm m$ .

У больных АГ с МС антропометрические показатели существенно превышали аналогичные у здоровых лиц. Масса тела составила  $107,5 \pm 6,50$  кг, в контроле –  $74,2 \pm 2,96$  кг. ИМТ достигал  $37,5 \pm 3,13$  кг/м<sup>2</sup>, ОТ –  $115,6 \pm 7,15$  см. В контрольной группе эти показатели были равны  $26,2 \pm 1,32$  кг/м<sup>2</sup> и  $78,3 \pm 2,46$  см соответственно.

У больных была выявлена гиперлипидемия (ОЛ –  $8,55 \pm 0,03$  г/л) II б типа. Так, ОХС составил  $6,10 \pm 0,01$  ммоль/л, ХС ЛПНП –  $4,40 \pm 0,01$  ммоль/л, ХС ЛПОНП –  $0,49 \pm 0,001$  ммоль/л, ТГ –  $2,44 \pm 0,08$  ммоль/л. Содержание ХС ЛПВП было снижено у больных обеих групп ( $1,16 \pm 0,004$  ммоль/л). Уровень общих фосфолипидов плазмы также был снижен –  $1,48 \pm 0,01$  ммоль/л (в контроле –  $3,55 \pm 0,02$  ммоль/л).

Отмечалось повышение ПОЛ плазмы. Так, концентрация ТБК-активных продуктов в плазме составила  $5,33 \pm 0,01$  мкмоль/л, в контроле –  $3,50 \pm 0,03$  мкмоль/л. Уровень МДА в тромбоцитах также оказался повышен ( $1,38 \pm 0,005$  нмоль/109 тр.) и в контроле ( $0,66 \pm 0,003$  нмоль/109 тр.), которые свидетельствуют об активации в них свободно-радикального окисления (СРО) в связи с ослаблением внутритромбоцитарной антиокислительной активности. Уровень стимулированного тромбином МДА тромбоцитов ( $8,96 \pm 0,04$  нмоль/109 тр.) и его выделения ( $7,59 \pm 0,03$  нмоль/109 тр.) оказались повышенными. Содержание АГП в плазме больных составляло  $3,13 \pm 0,007$  Д233 /1 мл (в контроле –  $1,44 \pm 0,006$  Д233 /1 мл. В тромбоцитах АГП ( $3,41 \pm 0,01$  Д233 /109 тр.) также существенно превышали контрольные значения ( $2,13 \pm 0,01$  Д233 /109 тр.).

Активация СРО в плазме и тромбоцитах у больных АГ с МС стало возможным в результате существенно ослабления антиоксидантной активности плазмы –  $22,4 \pm 0,11$  % (в контроле –  $32,5 \pm 0,13$  %) и антиокислительных ферментов кровяных пластинок – СОД  $1020 \pm 5,14$  МЕ/109 тр. (у здоровых лиц –  $1520 \pm 4,03$  МЕ/109 тр.) и каталазы –  $4940 \pm 25,6$  МЕ/109 тр. (в группе сравнения –  $9620 \pm 16,08$  МЕ/109 тр.).

Исследование липидного состава мембран тромбоцитов у больных АГ с МС выявило снижение содержания в них ОФЛ до  $0,30 \pm 0,001$  мкмоль/109 тр. и увеличение уровня ОХС до  $1,04 \pm 0,002$  мкмоль/109 тр. В контроле аналогичные показатели составили  $0,46 \pm 0,002$  мкмоль/109 тр. и  $0,67 \pm 0,002$  мкмоль/109 тр. соответственно. У больных отмечалось усиление тромбoplastинообразования. Время образования активного тромбoplastина у них составляло  $2,9 \pm 0,009$  мин., активность – 10,6 сек. В группе сравнения тромбoplastин образовался за  $2,5 \pm 0,007$  мин., а активность его составляла  $13,0 \pm 0,007$  сек.

Весь комплекс биохимических изменений в тромбоцитах характеризовал усиление обмена в них арахидоновой кислоты и повышение тромбосанообразования. В простой пробе переноса косвенно оценен уровень тромбосана в кровяных пластинках больных –  $61,3 \pm 0,15$  % (в контроле –  $35,7 \pm 0,13$  %). Эти показатели говорят об активации циклооксигеназы, выявленной по восстановлению АТ в коллаген-аспириновой пробе –  $92,1 \pm 0,13$  % и тромбосансинтетазы, определенной по восстановлению АТ в коллаген-имидазольной пробе –  $83,4 \pm 0,16$  %. У здоровых лиц аналогичные показатели составили  $67,9 \pm 0,13$  и  $57,4 \pm 0,17$  % соответственно.

Количество тромбоцитов в крови больных было в пределах нормы. Отмечено усиление ААТ –  $55,0 \pm 0,30$  % (контроль –  $36,0 \pm 0,30$  %) и ускорение АТ, особенно под влиянием коллагена –  $21,0 \pm 0,20$  сек. (в контроле –  $33,0 \pm 0,13$  сек.). Несколько медленнее АТ развивалась у больных под влиянием АДФ ( $25,0 \pm 0,17$  сек.) и ристомидина ( $23,5 \pm 0,17$  сек.; в контроле –  $45,0 \pm 0,30$  сек.). АТ с Н202 в обеих группах больных составила  $30,0 \pm 0,14$  сек. Тромбиновая и адреналиновая АТ также развивались быстрее, чем

в контроле, и были равны у больных обеих групп  $37,5 \pm 0,17$  сек. и  $68,5 \pm 0,15$  сек. соответственно ( $P < 0,01$ ). Время развития АТ под влиянием сочетанного применения индукторов также было ускоренным. АДФ+адреналин –  $20,5 \pm 0,17$  сек., АДФ+коллаген –  $16,5 \pm 0,16$  сек., адреналин+коллаген –  $12,5 \pm 0,12$  сек.

В результате исследования у больных АГ с МС выявлено повышение адгезивной и агрегационной функций тромбоцитов *in vitro* и *in vivo*. В основе этих нарушений лежат глубокие сдвиги липидного обмена, активация перекисного окисления липидов плазмы и тромбоцитов, усиление синтеза в стенке сосудов фактора Виллебранда и интенсификация тромбоксанообразования в кровяных пластинках. Активация тромбопластинообразования является ведущей причиной повышения свертывания крови у больных АГ с МС.

Обменные нарушения при МС носят сложный характер и сопровождаются развитием тромбоцитопатии и активацией процесса свертывания крови. Изменения липидного спектра крови влекут за собой сдвиги в соотношении ХС/ФЛ в мембранах тромбоцитов, что в совокупности с обменными нарушениями способствует ослаблению антиоксидантной защиты кровяных пластинок и повышению концентрации в них первичных и вторичных продуктов ПОЛ. В этих условиях активируются тромбоциты и тромбопластинообразование. Повышение тромбогенного потенциала плазмы крови при МС связано в первую очередь с активацией тромбоцитарных функций, а не с повышением уровней различных факторов свертывания, в том числе фибриногена. Активация фибринообразования, без сомнения, имеющая место при МС, происходит в первую очередь на поверхности активированных тромбоцитов и носит всегда вторичный характер по отношению к их адгезии и агрегации.

Совокупность метаболических нарушений состава мембран тромбоцитов и усиление внутритромбоцитарного ПОЛ приводит к повышению АТ. Высокие адгезивная и агрегационная активности тромбоцитов под влиянием различных индукторов указывают на повышенную активность тромбоцитов *in vivo*. Возможными механизмами этого усиления можно считать активизацию обмена арахидоновой кислоты с повышением в них тромбоксанообразования, зарегистрированное в пробах переноса, и повышение концентрации участвующего в процессе агрегации фактора Виллебранда, косвенно оцененной по ускорению АТ с ристомицином.

Исследование сочетанного влияния индукторов на процесс АТ у больных АГ с МС показало их взаимопотенцирующее действие. Регистрация АТ под влиянием сочетания двух индукторов позволяет приблизиться к пониманию реальных условий кровотока у пациентов АГ с МС и свидетельствует о целесообразности назначения соответствующей метаболической и дезагрегирующей терапии.

Выявленные нарушения тромбоцитарного гемостаза у больных АГ с МС нуждаются в адекватной метаболической коррекции, направленной на разрыв «порочных кругов» обмена веществ. С целью коррекции метаболических и тромбоцитарных сдвигов можно рекомендовать гипокалорийную диету, дозированные физические нагрузки и сиофор.

#### Литература

1. *Метаболический сердечно-сосудистый синдром*. СПб., 1999. С. 203.
2. Беляков Н. А., Мазуров В. И., Чубриева С. Ю. *Метаболический синдром X. Ч. I. История вопроса и терминология // Эфферентная терапия*. 2000. Т. 6. № 2. С. 3–15.
3. *Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма*. Челябинск, 2000. С. 167.
4. Гаврилов В. Б., Мишкорудная М. И. *Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело*. 1983. № 3. С. 33–36.
5. *Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний / Под ред. Петрищева Н. Н., Папаян Л. П.* СПб. 1999. С. 117.
6. *Программа клинико-лабораторного исследования больных тромбоцитопатиями*. СПб., 1992. С. 25.
7. Захария Е. А., Кипах М. В. *Упрощенный способ определения агрегации и дезагрегации тромбоцитов // Лабораторное дело*. 1989. № 1. С. 36–38.
8. Колб В. Г., Камышников В. С. *Справочник по клинической химии*. Минск, 1982.
9. Кубатиев А. А., Андреев С. В. *Перекиси липидов и тромбоз // Бюллетень эксперимент. биологии и медицины*. 1979. № 5. С. 414–417.
10. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. *Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лабораторное дело*. 1991. № 10. С. 9–13.
11. Assmann G., Cullen P., Schulte H. *The Munster Heart Study (PROCAM), results of follow-up at 8 years. // European Heart Journal*. 1998. Vol. 19. P. 3–11.

12. Biggs R., Doyglas A. S., Macfarlane R. G. *The formation of the thromboplastin in human blood* // *Physiol J.* 1953. Vol. 119. № 1. P. 89–104.
13. Fridwald W. T., Levy R. J., Fredrickson D. S. *Estimation of the concentration of low-density-lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge* // *Clinical Chem.* 1972. Vol. 18. P. 499–502.
14. Pyorala K., De Backer G., Graham J. et al. *Prevention of coronary heart disease in clinical practice. Recommendation of the Task Force of the European Society of Cardiology, European Atherosclerosis Society and European Society of Hypertension.* // *European Heart Journal.* 1994. Vol. 15. P. 1300–1331.
15. *Report of the National Cholesterol Education program: expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults* // *Arch intern. Med.* 1988. Vol. 148. P. 36–69.
16. Schmith J. B., Jngerman C. M., Silver M. J. *Malondialdehyde formation as an indicator of prostaglandin, production by human platelet* // *J. Lab. Clin. Med.* 1976. Vol. 88. № 1. P. 167–172.