

© Делій В. Ю., Сулаєва О. М.

УДК 616.33-002:(-005.1)

Делій В. Ю., Сулаєва О. М.

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ФУНКЦІОНАЛЬНИМ СТАНОМ ТРОМБОЦИТІВ ТА РЕЗУЛЬТАТОМ ГОСТРОЇ КРОВОТЕЧІ З ВИРАЗКОМ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

oksanhistology@gmail.com

Робота є фрагментом НДР МОЗ України «Між-тканинні та міжклітинні кооперації в реалізації репаративної регенерації органів: залежність від реактивності організму» (№ державної реєстрації 0109U008714 шифр МК 01.10).

Вступ. Суперечливі клінічні дані щодо ролі системи коагуляції у детермінації результату захворювання пацієнтів з гострими кровотечами з виразок гастродуоденальної зони [2,4,10] спонукали до більш детального вивчення системи гемостазу. Остання, окрім коагуляційної системи, включає тромбоцити, ендотелій і тканинні фактори [1,5,9]. Особливе місце серед них займає тромбоцит через свою здатність швидко реагувати на ушкодження судинної стінки шляхом взаємодії з іншими ланками гемостазу [3,7]. При цьому, саме тромбоцит та процес тромбоутворення є відповідальними за запуск та подальшу реалізацію гемостазу [1,9]. Відомо, що процес тромбоутворення складається з трьох стадій: адгезії (колаген, фактора фон Вілебранда), агрегації (АДФ, АТФ, серотонін) та фази стабілізації тромбу (фібрин) [2,3,9]. До цього треба додати систему відповідь організму на масовану крововтрату, що передбачає вивільнення великої кількості гуморальних чинників, таких як адреналін, ацетилхолін та ангіотензін II, які, так чи інакше, впливають на функціональну активність тромбоцитів [5,10]. Проте, незважаючи на усе сказане раніше, сьогодні й досі залишається невідомим, чи змінюється функціональна відповідь тромбоцитів на ці чинники у даній категорії хворих, та як ці зміни впливають на результат захворювання.

Мета роботи – дослідити зв'язок між функціональним станом тромбоцитів та результатом захворювання у пацієнтів з гострими кровотечами з виразок гастродуоденальної зони.

Об'єкт і методи дослідження. В роботі проведено аналіз клініко-лабораторних показників 171 пацієнта віком 56 ± 3 років з гострими кровотечами з виразок гастродуоденальної зони. До контрольної групи увійшли 50 пацієнтів аналогічного віку, що проходили діагностичне обстеження і не страждали на виразкову хворобу шлунку та дванадцятипалої кишки. На момент госпіталізації та у динаміці спостереження всім хворим була проведена діагностична езофаго-гастродуоденофіброскопія з використанням апарата GIF Q 40 «Olympus». Завершеною вважали кровотечу за наявності чистого дна та фібрину. Оцінку функціонального стану тромбоцитів прово-

дили *in vitro*. Периферійну кров набирали у пластикову пробірку із кислим цитратдекстрозним антикоагулянтном (об'ємна пропорція 9:1 відповідно) [7]. Концентрація тромбоцитів у багатій на тромбоцити плазмі складала 200-250 тис./мкл [7]. Отримання багатой на тромбоцити плазми проводили завдяки центрифугуванню крові у продовж 5 хв. зі швидкістю 1000 об./хв., бідної на тромбоцити плазма (що використовувалася в якості контролю) – завдяки центрифугуванню 20 хв. при 3000 об./хв. [7]. Вимірювання агрегації тромбоцитів здійснювалося спектрофотометричним способом на агрегометрі фірми Solar. Співвідношення плазми до індуктора агрегації становило 9:1. Для вимірювання індукованої агрегації тромбоцитів індуктори агрегації використовувалися у концентраціях EC_{50} , а саме: колаген («Технологія стандарт») – 20 мг/мл, ристоміцин («Технологія стандарт») – 7,5 мг/мл, АДФ («Sigma») – 50 мкм/л, АТФ («Sigma») – 200 мкм/л, адреналін («Sigma») – 50 мкм/л, серотонін («Sigma») – 10 мкм/мл, ангіотензін II («Sigma») – 10 мкм/л, ацетилхолін («Sigma») – 10 мкм/л. Статистичний аналіз даних проводили у пакеті MedCalc версії 12.3 (MedCalcSoftwareInc, Broekstraat, Бельгія) [8].

Результати дослідження та їх обговорення. Вивчення агрегації тромбоцитів, індукованої колагеном, ристоміцином, АДФ, АТФ, адреналіном, серотоніном, ангіотензіном II, ацетилхоліном у групі хворих з гострими кровотечами з виразок гастродуоденальної зони показало доволі широку варіабельність відповіді тромбоцитів на кожен з індукторів (табл.).

Серед пацієнтів було зареєстровано як повну відсутність ефекту індуктора на тромбоцити, так і максимальну (100%) агрегацію тромбоцитів. В той же час, більша частина пацієнтів мала доволі низькі показники індукованої агрегації тромбоцитів, що відповідало кількаразовому зниженню цих показників у порівнянні із контролем. При цьому, порушення функціональної відповіді тромбоцитів на індуктори мав певні індивідуальні особливості, що потребувало проведення аналізу цієї відповіді з оглядом на механізми дії кожного індуктора.

При дослідженні функціональної відповіді тромбоцитів на колаген зафіксовано декілька варіантів порушень: пролонгована активація тромбоцитів у відповідь на колаген (тривалий 6-8 хвилинний латентний період); низька чутливість до колагену (низька амплітуда агрегації тромбоцитів); у разі

Таблиця.
Агрегація тромбоцитів у групі контролю та хворих з кровотечами з виразок гастродуоденальної зони

Індуктор	Група контролю	Виразкові кровотечі
Колаген	67,0±8,4	14,8±5,0***
Рістоміцин	70,0±10,0	25,3±12,5***
АДФ	60,1±5,5	27,2±4,4*
АТФ	64,5±13,5	17,7±4,5***
Адреналін	74,5±4,6	20,4±4,5***
Серотонін	43,2±5,4	9,3±5,6***
Ацетилхолін	50,5±5,5	22,0±5,3*
Ангіотензін II	48,0±1,2	13,0±7,0***

Примітка. Достовірність міжгрупових відмінностей: * – $p \leq 0,05$; ** – $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

високої чутливості – повна зворотна агрегація тромбоцитів. Аналіз даних виявив неочікувану закономірність: найвищою частота рецидивів була серед пацієнтів із середньою відповіддю на колаген ($p=0,02$), що характеризувалася тривалим (6-8 хвилин) латентним періодом. Крім того, зниження ефектів фактора рістоміцину (аналог фактору фон Вілебранда) у порівнянні із контролем вказує на порушення (обмеження) дегрануляції або зниження ефектів паракринних регуляторів, що звільняються з щільних гранул [1,2,9]. Отже, одною з причин нестабільного гемостазу є порушення, які відбуваються на рівні внутрішньоклітинної сигнальної системи тромбоцита [6].

Наступним кроком у вивченні став аналіз результату захворювання у пацієнтів з різною функціональною відповіддю тромбоцитів на паракринні чинники. Хоча статистично значимих розбіжностей частоти рецидивів кровотеч серед хворих з різною амплітудою АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів виявити не вдалося ($p=0,26$), привертає увагу той факт, що у пацієнтів з високою функціональною відповіддю тромбоцитів на АДФ в майже ж випадків спо-

стерігається повторна кровотеча. Останній факт був асоційований із зворотним або частково зворотним характером відповіді тромбоцитів. Отже, хоча рівень агрегації не є вирішальним у детермінації результату захворювання, існує явний зв'язок між наявністю порушення функціональної відповіді тромбоцитів на індуктори адгезії/агрегації та результатом захворювання.

Дослідження особливостей функціональної відповіді тромбоцитів на гуморальні чинники дозволило встановити наявність загального тренду, який полягав у двох типах змін: зниженні амплітуди агрегації або розвитку дезагрегації після сягання піку відповіді тромбоцитів на чинник.

Аналіз ролі гуморальних чинників (у першу чергу адреналіну) у детермінації результату кровотечі не визначив наявності статистично значущого впливу ($p=0,20$). Висока ж відповідь на ангіотензін II була завжди асоційована із низькою на індуктори адгезії/агрегації (коефіцієнт кореляції між ефектами ангіотензину II та колагену на агрегацію тромбоцитів становив $r=-,69$, $p=0,03$; ангіотензину II та АДФ $r=-0,41$, $p=0,05$), що говорить про модулюючу роль гуморальних факторів у процесах реалізації гемостазу хворих з гострими кровотечами з виразок гастродуоденальної зони.

Висновки. Найбільш типовими варіантами порушення відповіді тромбоцитів на індуктори адгезії та агрегації були пролонгована активація та зворотний характер агрегації, що в значній мірі впливало на результат кровотечі ($p=0,02$). Аналіз ролі гуморальних чинників (у першу чергу адреналіну) у детермінації результату кровотечі не визначив наявності статистично значущого впливу ($p=0,20$), а асоціація високої функціональної відповіді тромбоцитів на гуморальні чинники та низької на індуктори адгезії/агрегації показало їхню модулюючу роль у регуляції гемостазу.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення молекулярних механізмів дисфункції тромбоцитів за умов гострої виразкової кровотечі може стати основою розробки нової стратегії корекції гемостазу.

Література

1. Барінов Э. Ф. Молекулярные механизмы тромбогенеза / Э. Ф. Барінов, О. Н. Сулаева // Кардиология. – 2012. – Т. 52. – № 2. – С. 45-56.
2. Барінов Э. Ф. Роль пуриновых рецепторов тромбоцитов в регуляции гемостаза / Э. Ф. Барінов, О. Н. Сулаева // Клини. лаб диагностика. – 2012. – № 11. – С. 30-35.
3. Барінов Э. Ф. Роль серотонина в физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта / Э. Ф. Барінов, О. Н. Сулаева // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2012. – №2. – С. 4-13.
4. Кондратенко П. Г. Острое кровотечение в просвет органов пищеварительного канала: Практическое руководство / Кондратенко П. Г., Смирнов Н. Л., Раденко Е. Е. – Донецк, 2006. – 420 с.
5. Сулаева О. М. Динаміка функціонального стану нейтрофілів у пацієнтів з виразковими кровотечами / О. М. Сулаева // Тавр. мед.-биол. Вестник. – 2011. – № 14, Ч. 2. – С. 56-60.
6. Barinov E. F. Purine Receptors and Associated Signaling Systems in Regulation of Platelet Function / E. F. Barinov, O. N. Sulaieva, N. N. Kanana // Kardiologiya. – 2014. – Т. 54. – №. 2. – С. 56-62.
7. Barinov E. Platelet aggregation measurement for assessment of hemostasis failure mechanisms in patients with gastroduodenal ulcer bleeding / E. Barinov, O. Sulaieva, Y. Lyakch // Clin. Exp. Gastroenterol. – 2013. – Т. 6. – С. 139-148.
8. Petrie A. Medical Statistics at a Glance / A. Petrie, C. Sabin // 2nd ed. Malden, MA: Blackwell Publishing; 2005.
9. Platelet functions beyond hemostasis / S. S. Smyth, P. R. McEver, C. N. M. R. Hoffman // J. Thromb. Haemost. – 2009. – Vol. 7(11). – P. 1759-1766.
10. Sulaieva O. Relationship between leukocytes recruitment and risk of rebleeding in patients with peptic ulcers / O. Sulaieva, V. Delyi, S. Zharikov // Pathophysiology. – 2015. – doi:10.1016/j.pathophys.2015.07.002

УДК 616.33-002:(-005.1)

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ФУНКЦІОНАЛЬНИМ СТАНОМ ТРОМБОЦИТІВ ТА РЕЗУЛЬТАТОМ ГОСТРОЇ КРОВОТЕЧІ З ВИРАЗКОМ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ

Делій В. Ю., Сулаєва О. М.

Резюме. З метою дослідження зв'язку між функціональним станом тромбоцитів та результатом гострої кровотечі з виразок гастродуоденальної зони проведено аналіз клініко-лабораторних показників 171 пацієнта віком 56 ± 3 років. Встановлено, що найбільш типовими варіантами порушення відповіді тромбоцитів на індуктори адгезії та агрегації були пролонгована активація та зворотний характер агрегації, що в значній мірі впливало на результат захворювання (найвищою частота рецидивів була серед пацієнтів з середньою відповіддю на колаген ($p=0,02$) та високою відповіддю на АДФ). Аналіз ролі гуморальних чинників у детермінації результату кровотечі не визначив наявності статистично значущого впливу.

Ключові слова: пептичні виразки, гостра кровотеча, агрегація тромбоцитів.

УДК 616.33-002:(-005.1)

СВЯЗЬ МЕЖДУ ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ СОСТОЯНИЕМ ТРОМБОЦИТОВ И ИСХОДОМ ОСТРОГО КРОВОТЕЧЕНИЯ ИЗ ЯЗВ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ЗОНЫ

Делий В. Ю., Сулаева О. Н.

Резюме. С целью изучения связи между функциональным состоянием тромбоцитов и острым кровотечением из язв гастродуоденальной зоны проведен анализ клинико-лабораторных показателей 171 пациента в возрасте 56 ± 3 лет. Установлено, что наиболее типичными вариантами нарушения ответа тромбоцитов на индукторы адгезии и агрегации были пролонгированная активация и обратный характер агрегации, что в значительной степени влияло на исход заболевания (высокой частота рецидивов была среди пациентов со средним функциональным ответом на коллаген ($p=0,02$) и высоким функциональным ответом на АДФ). Анализ роли гуморальных факторов в детерминации результата кровотечения не определил наличия статистически значимого влияния на исход.

Ключевые слова: пептические язвы, острые кровотечения, агрегация тромбоцитов.

UDC 616.33-002:(-005.1)

THE RELATIONSHIP BETWEEN PLATELETS' STATE AND CLINICAL OUTCOME OF ACUTE GASTRODUODENAL ULCER BLEEDING

Delii V. Yu., Sulaieva O. N.

Abstract. In order to establish the relationship between platelet's state and clinical outcome of acute gastroduodenal ulcer bleeding we have assessed clinical and laboratory parameters of 171 patients aged 56 ± 3 years. Patients considered eligible for enrollment had to be over 18 years of age, suffer from typical symptoms of acute bleeding from gastric and duodenal ulcers, confirmed by positive upper gastrointestinal endoscopy. Exclusion criteria were age younger than 35 years or over 75 years, any allergy to established medications, coagulopathy, infarction of myocardium and ischemic stroke in the last 6 months, pregnancy, cirrhosis or use of a proton pump inhibitor or H_2 -receptor antagonist in the 2 weeks prior to enrollment in the study. The patients with malignant ulcers or trauma were also excluded. Patients were divided into two groups according to initial endoscopic data: group 1 with sustained hemostasis; group 2 with failure of initial hemostasis corresponding to Forrest classification. There were no gender differences in frequency of cardiovascular pathology in patients with ulcer bleeding. Disorders of thrombogenesis were more often in patients with such comorbidities as cancer, portal hypertension and acute inflammatory diseases. However there were no significant differences in coagulation system indexes ($p>0,05$) and platelet count in patients of the 1st and the 2nd groups. Nevertheless, analysis of platelet aggregation has shown the difference in platelet response to all agonists. Despite the absence of significant links between collagen- and thrombin-induced platelet aggregation and ulcer size or location, association of platelet reactivity with endoscopic characteristics of hemostasis was found. It was shown that the level of platelets' aggregation induced by collagen, ristomycin, ADP, ATP, epinephrine, serotonin, angiotensin II, acetylcholine among patients with acute gastroduodenal ulcer bleeding widely varies. It has been observed both a complete lack of factors effect on platelets' aggregation and 100% – level of platelets' response to them. However, most of patients had a relatively low level of platelets' response to these factors that is in several times lower in comparison with control. Moreover, the most typical violation of platelets' response to adhesion molecules and aggregation factors were prolonged activation and reversed aggregation, which largely influence on the clinical outcome (high frequency of bleeding recurrence has been observed among patients with an average level of platelet's response to collagen ($p = 0.02$) and a high level of platelet's response to ADP). This fact can be explained by the defect of platelet degranulation or impairment of secondary agonists' effects. On the other hand, there are no statistically significant role ($p = 0.20$) of a platelets' response level to humoral factors (adrenaline in the first place) in determining of acute gastroduodenal ulcer bleeding outcome. In addition, a high level of platelets' response to humoral factors was associated with a low level of platelets' response to adhesion molecules/aggregation factors. The last fact has revealed modulating role of humoral factors in hemostasis implementation and the role of platelets dysfunction in ulcer bleeding and rebleeding development. These data could be explained by the following facts: 1) platelets are the first and obligatory participants of thrombogenesis; 2) platelet surface is the place for reactions of coagulation cascade realization, reacts with thrombin and tissue factor; 3) platelets are the targets for different systemic factors, involved in reaction of

organism to bleeding. Molecular and functional characteristics of platelets can be informative in assessment of the individual reactivity of an organism and the key mechanisms that lead to the defects in thrombogenesis. Despite the classical postulate that there are four major risk factors for bleeding peptic ulcers namely *Helicobacter pylori* infection, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), stress and gastric acid and that the reduction or elimination of these risk factors lessen ulcer recurrence and rebleeding rates, we support another hypothesis. According to the current theories of ulcerogenesis we suggest that development of ulcer bleeding and alteration of thrombogenesis mechanisms, which might determine the spontaneous resolution of bleeding, are related to the factors involved both in regulation of haemostasis and inflammation. And assessment of platelet aggregation induced by different agonists indirectly confirmed this thought.

Keywords: gastric and duodenal ulcers, acute bleeding, platelet aggregation.

Рецензент – проф. Скрипник І. М.

Стаття надійшла 06.10.2015 р.