

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ И СЕКРЕЦИЮ ГРАНУЛ ТРОМБОЦИТОВ

Столяр М.А.

Научные руководители – канд. биол. наук, проф. Н.М. Титова,

канд. мед. наук, доцент И. А. Ольховский

Сибирский федеральный университет

Введение

Система свертывания крови, обеспечивает в организме млекопитающих предотвращение кровопотери при повреждении кровеносных сосудов. На сегодняшний день вполне очевидно, что тромбоцит является клеткой активно синтезирующей гуморальные факторы, способствующие как образованию сгустков, так и воспалению. Активирование тромбоцитов — очень важный этап гемостатического процесса, т.к. он лежит в основе как нормального гемостаза, так и патологического образования тромбов и диссеминированного внутрисосудистого свертывания. В случае повреждения кровеносного сосуда тромбоциты подвергаются действию различных веществ, инициирующих процессы агрегации (склеивание тромбоцитов друг с другом) и адгезии (прилипание клеток к поврежденной поверхности), в результате которых образуется тромбоцитарная пробка. При активации тромбоцитов под влиянием коллагена и первых порций высвобождающегося АДФ, адреналина, тромбоксана A_2 и тромбина происходит быстрая активация и дегрануляция все новых и новых кровяных пластинок, в силу чего в их "плазматической атмосфере" резко увеличивается количество эндогенных стимуляторов агрегации. Происходит дальнейшее лавинообразное усиление агрегации. Постоянное избыточное активирование тромбоцитов (гиперагрегация) является фактором риска развития тромбозов, хронического воспалительного процесса в стенках сосудов и развития сердечно-сосудистых заболеваний. Нарушения в системе гемостаза ведут к серьезным клиническим последствиям. В настоящее время в клинической практике для предотвращения этого патологического состояния широко используются различные дезагреганты, в том числе малые дозы ацетилсалициловой кислоты. Вместе с тем, дисбаланс в регуляции гемостаза может сопровождаться как тромбозами, так и чрезмерными кровотечениями.

Антитромбоцитарная терапия сегодня общепризнано является необходимым звеном полноценной схемы лечения пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых катастроф. Хорошо известна роль аспирина в профилактике инфаркта миокарда и инсульта. Высокая эффективность аспирина в предотвращении тромботических осложнений сердечно-сосудистых заболеваний оправдывает его широкое применение в кардиологической практике. Однако в ходе последних исследований было показано, что не у всех пациентов удается достичь адекватного снижения агрегации тромбоцитов и предотвратить повторный тромбоз. Развитие инсультов, инфаркта миокарда или других тромботических событий у пациентов, длительно принимающих аспирин, является следствием аспиринорезистентности (нечувствительности к аспирину). Распространенность этого явления по данным ряда авторов, составляет от 5 до 48%.

Одновременно накапливаются данные о нарастании числа геморрагических осложнений при приеме ацетилсалициловой кислоты, в том числе профузных желудочных кровотечениях и геморрагических инсультах.

Миллионы людей по всему миру принимают АСК (ацетилсалициловая кислота), поэтому нетрудно себе представить, какое значение этот феномен имеет для практической медицины, ведь, по сути, многие пациенты оказываются без адекватной антиагрегантной терапии, но при этом рискуют развитием серьезных для жизни осложнений. Деагреганты назначаются по жестким схемам, не учитывающим индивидуальные особенности больного, основным ориентиром для врача является отсутствие противопоказаний. К сожалению, стандартизированного параметра, по которому можно было бы однозначно судить о гиперактивности тромбоцитов и степени ее изменения на фоне антиагрегантных препаратов, в настоящее время не существует. Необходимо проведение комплексных функциональных исследований, в том числе с использованием современных молекулярных технологий.

Одной из важнейших проблем, возникающих при попытке каким-либо образом измерить (оценить) степень ингибирования функции тромбоцитов после воздействия фармакологических агентов состоит в том, что ни один из существующих лабораторных тестов не включает в себя всю многогранность биологии и функции тромбоцитов. Не существует единого критерия оценки функции тромбоцитов, который мог бы отразить все сложные, многообразные и интегрированные пути (механизмы) реализации этих функций. Существуют запатентованные методы диагностики аспиринорезистентности на агрегометре импедансным и оптическим методами, но они не дают полной картины состояния тромбоцитарного гемостаза. Для сравнения, аналогичное измерение при помощи оптического агрегометра на плазме обогащенной тромбоцитами пропускает 67% пациентов с дефектом накопления и угрозой длительных кровотечений. Одновременное измерение реакции высвобождения тромбоцитарных гранул позволяет глубже понять механизмы агрегационного ответа.

Целью настоящей работы явилась определение влияния ацетилсалициловой кислоты на секрецию АТФ при активации тромбоцитов.

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использовалась цельная кровь пациентов больницы КНЦ СО РАН и добровольцев.

В работе использовался агрегометр корпорации CRONOLOG 700, работающий для образцов цельной крови и плазмы и использующий современные виды детекции: электронно-импедансный метод и люминесцентный метод. При люминесцентном измерении одновременно с агрегацией тромбоцитов можно исследовать и другие процессы, например, процессы секреции гранул, что позволяет обнаруживать приобретённые либо врожденные качественные дефекты тромбоцитов и своевременно начинать лечение.

Измерение агрегации проводилось на агрегометре CRONOLOG люминесцентным методом в цельной крови. Основной принцип действия люми-агрегометра – измерение секреции внеклеточного АТФ при помощи чувствительной люминесцентной пробы с синхронным измерением агрегации. АТФ, высвобождаемый при грануляции тромбоцитов, связывается реагентом CHRONOLUMЕи излучает кванты света.

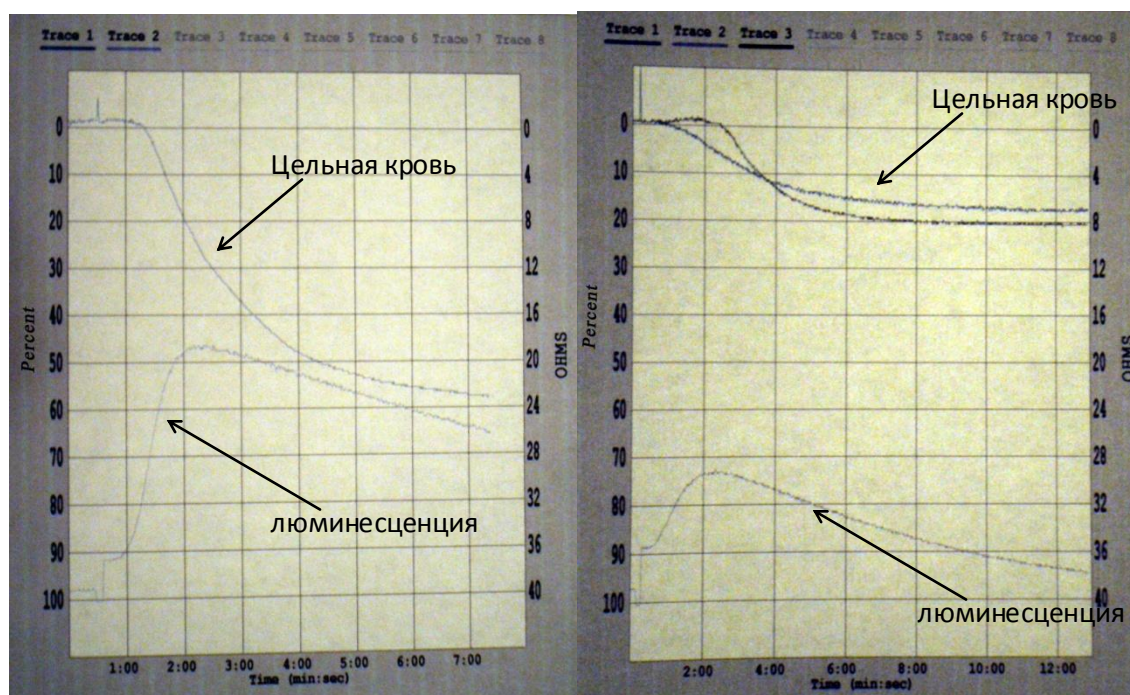
Результаты и их обсуждение

Установлен характер влияния АСК на секрецию АТФ из гранул тромбоцитов и на их агрегацию (см. рис.1, табл.1).

Таблица 1 - Изменение агрегационных свойств тромбоцитов при добавлении АСК

Метод	Индуктор	Кол-во	% снижения	% снижения
-------	----------	--------	------------	------------

		проб	агрегационной реакции после добавления АСК, \bar{X}	интенсивности реакции высвобождения АТФ после добавления АСК, \bar{X}
Люминесценция в цельной крови	Коллаген	7	60,3	59,1



а

б

Рисунок 1 - Агрегационный ответ тромбоцитов с люминесценцией в цельной крови без инкубации (а) и с инкубацией с АСК (б)

Выводы

Инкубация образца с АСК *invitro* снижает как агрегацию тромбоцитов и интенсивность реакции высвобождения АТФ из гранул. При этом могут наблюдаться индивидуальные особенности в характеристиках кривых оптического поглощения, импеданса и интенсивности люминесценции. Таким образом, в работе показана важность использования комбинированного использования оценки параметров агрегационных характеристик и динамики секреции содержимых гранул тромбоцитов для оценки степени «аспиринорезистентности» конкретного индивидуума. Необходима дальнейшая работа по стандартизации метода с целью получения более полной и точной диагностической возможности выявления нарушений функции тромбоцитов.