

Состояние гемостаза и функциональной активности нейтрофилов у больных с разной чувствительностью к ацетилсалициловой кислоте при остром коронарном синдроме

Гринштейн И. Ю.¹, Савченко А. А.^{1,2}, Гринштейн Ю. И.¹, Шимохина Н. Ю.¹, Петрова М. М.¹

¹ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России. Красноярск, Россия; ²ФГБНУ “НИИ медицинских проблем Севера”. Красноярск, Россия

Цель. Изучить особенности взаимосвязи между показателями гемостаза и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у чувствительных и резистентных к ацетилсалициловой кислоте (АСК) больных с острым коронарным синдромом (ОКС).

Материал и методы. В исследование включены 53 пациента в первые 24 ч от развития ОКС. Контрольная группа сформирована из 50 относительно здоровых добровольцев. Все больные до начала лечения и реваскуляризации были обследованы на резистентность к АСК, и соответственно разделены на группы чувствительных (АЧ) и резистентных (АР). Оценка чувствительности к АСК осуществлялась *in vitro*. У всех обследованных изучались показатели сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза. С помощью хемилюминесцентного анализа исследовалась функциональная активность нейтрофилов.

Результаты. У АР больных с ОКС в крови снижено содержание тромбоцитов, уровень АДФ- (АДФ в 5 мкМ) и адреналин-индуцированной агрегации, повышается уровень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (АТ) при АДФ в 0,1 мкМ и уровень фактора Виллебранда. У чувствительных к АСК пациентов обнаружено снижение агрегации тромбоцитов с адреналином. Особенностей состояния коагуляционного гемостаза в зависимости от чувствительности к АСК не обнаружено. Хемилюминесценция нейтрофилов больных с ОКС характеризуется увеличением времени выхода на максимум. У АР больных обнаружено снижение индекса активации. У АЧ больных с ОКС функциональная активность нейтрофилов

более выражено коррелирует с показателями, характеризующими процессы свертывания, тогда как у АР пациентов — с показателями фибринолитической и антикоагуляционной активности.

Заключение. У больных с ОКС в зависимости от чувствительности к АСК обнаружены характерные особенности в состоянии сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, выражающиеся у АР больных в повышении АДФ-индуцированной агрегационной способности тромбоцитов, в снижении их количества и повышении уровня фактора Виллебранда. У больных с ОКС выявляется замедленная скорость развития “респираторного взрыва” в нейтрофилах. У АР больных с ОКС обнаружен более выраженный дисбаланс между состоянием коагуляционного гемостаза и “респираторного взрыва” нейтрофильных гранулоцитов, определяемый в снижении зависимости реактивности нейтрофилов от свертывающей активности и появления взаимосвязей с показателями фибринолитической и антикоагуляционной активности.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, ацетилсалициловая кислота, тромбоциты, агрегация, нейтрофилы, хемилюминесцентная активность.

Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2015; 14(5): 29–34
<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2015-5-29-34>

Поступила 01/06-2015

Принята к публикации 22/06-2015

Hemostasis and functional properties of neutrophils in patients with various sensitivity to acetylsalicylic acid in acute coronary syndrome

Grinshtein I. Yu.¹, Savchenko A. A.^{1,2}, Grinshtein Yu. I.¹, Shimokhina N. Yu.¹, Petrova M. M.¹

¹SBEI HPE “Krasnoyarsk State Medical University n.a. Voyno-Yasenevsky” of the Healthcare Ministry. Krasnoyarsk, Russia; ²FSBSI SRI of Medical Problems of the North. Krasnoyarsk, Russia

Aim. To study the specifics of relation between hemostasis parameters and functional activity of neutrophil granulocytes in sensitive and resistant to acetylsalicylic acid (ASA) patients with acute coronary syndrome.

Material and methods. Totally 53 patients included during the first 24 hours of ACS. Controls consisted of 50 relatively healthy individuals. All patients before the treatment and revascularization were assessed for the resistance to ASA, and selected into groups of sensitive (AS) and

resistant (AR). Sensitivity test was done *in vitro*. In all participants the coagulation and platelet clotting systems were studied. With the luminescent method the neutrophil activity was assessed.

Results. In AR with ACS there was decrease of platelets in blood, decreased level of ADP- (ADP 5 mcM) and adrenalin-induced aggregation, increases the level of ADP-induced platelets aggregation (PA) with ADP 0,1 mcM, and von Willebrand factor level. In the ASA sensitive patients there was a decrease of adrenalin induced aggregation.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

Тел.: +7 (391) 264-27-18

e-mail: grinstein.yi@gmail.com

[Гринштейн И. Ю.* — к.м.н., ассистент кафедры поликлинической терапии и семейной медицины, Савченко А. А. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой физиологии им. проф. А. Т. Пшоника, заведующий лабораторией молекулярно-клеточной физиологии и патологии, Гринштейн Ю. И. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии ИПО, Шимохина Н. Ю. — к.м.н., докторант кафедры поликлинической терапии, семейной медицины и здорового образа жизни с курсом ПО, Петрова М. М. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой поликлинической терапии, семейной медицины и здорового образа жизни с курсом ПО].

There were no specifics of coagulation hemostasis according to ASA sensitivity. Chemiluminescence (CL) of neutrophils in ACS has a maximized out time. In AR there was decrease of activation. In AS functional activity of neutrophils more significantly correlates with the parameters of clotting, but in AR — with fibrinolytic and anticoagulation parameters.

Conclusion. In ACS patients depending on ASA sensitivity, there are character specifics of platelet clotting: increase of ADP-induced aggregation in AR, decrease of platelet amount and the level of von Willebrand factor. In ACS patients there is a decreased velocity of

“respiratory boost” in neutrophils. In AR there is more prominent dysbalance of coagulation hemostasis and “respiratory boost” of neutrophils, with the decrease of neutrophil reactivity related to clotting activity and appearance of relations with the parameters of fibrinolytic and anticoagulation activity.

Key words: acute coronary syndrome, acetylsalicylic acid, platelets, aggregation, neutrophils, chemiluminescence.

Cardiovascular Therapy and Prevention, 2015; 14(5): 29–34

<http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2015-5-29-34>

АДФ — аденозиндифосфат, АР — аспирин-резистентные, АСК — ацетилсалициловая кислота, АТ — агрегация тромбоцитов, АТ III — антитромбин III, АЧ — аспирин-чувствительные, АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ[↑]ST — инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST, КИА — коэффициент ингибирования агрегации, ОКС — острый коронарный синдром, РФМК — растворимые фибрин-мономерные комплексы, САТ — спонтанная агрегация тромбоцитов, ТВ — тромбиновое время, ФВ — фактор Виллебранда, ХЛ — хемилюминесценция, люминисцентный, ная, I_{max} — максимальное значение интенсивности ХЛ, S — площадь под хемилюминесцентной кривой, Синд — индуцированная зимозаном ХЛ, Синд/Спонт — индекс активации, Спонт — S спонтанная ХЛ, T_{max} — время выхода на максимум интенсивности ХЛ.

Несмотря на развитие новых технологий в диагностике и терапии, острый коронарный синдром (ОКС) остается основной причиной смертности как в России, так и за рубежом. В настоящее время хорошо известно, что атеротромбоз — это результат хронического воспалительного процесса в атероматозных бляшках при атеросклерозе. Суммарный результат ишемического повреждения проявляется следующими основными изменениями: снижением капиллярной перфузии и трофики миокардиоцитов, протромботической стимуляцией сосудистой стенки и провоспалительной активацией клеток в зоне повреждения [1-3]. Изменения в гемостазе и активация воспалительных процессов тесно ассоциированы между собой, вследствие чего тромбоцитарно-лейкоцитарное взаимодействие становится ведущим в патогенезе ОКС. При этом взаимодействие тромбоцитов и лейкоцитов реализуется различными механизмами: контактным путем (формирование агрегатов) и гуморальным (сигнальные коммуникации при участии различных биологически активных веществ) [4-6].

Назначенная антитромбоцитарная терапия при ОКС предотвращает возможность активного тромбообразования, но зачастую имеет место недостаточная реакция на дезагреганты. В этих случаях речь идет о резистентности к антитромбоцитарным препаратам. Повышенная резистентность к ацетилсалициловой кислоте (АСК, аспирин) и клопидогрелу наиболее часто наблюдается у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (ИМ[↑]ST), что объясняет высокий риск развития ишемических осложнений у пациентов с ОКС по сравнению со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС) [7, 8]. Вместе с тем, роль воспаления, в частности функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в развитии вторичной резистентности при ОКС, остается не ясной. Поэтому весьма перспективным представляется изучение взаимосвязи между показателями гемостаза и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у чув-

ствительных (АЧ) и резистентных (АР) к АСК (аспирину) больных с ОКС.

Целью исследования явилось изучение особенностей взаимосвязи между показателями гемостаза и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у АЧ и АР больных с ОКС.

Материал и методы

В исследование включены 53 пациента в первые 24 ч от развития ОКС (средний возраст $61,1 \pm 1,1$ лет, 25 мужчин и 28 женщин). Критериями включения в исследование являлись: ОКС у пациентов обоего пола в возрасте 35-75 лет в первые 24 ч поступления в стационар от начала заболевания, не принимавших до госпитализации антиагреганты и антикоагулянты, и подписавших информированное согласие. Диагноз ОКС, а в дальнейшем острого ИМ[↑]ST или депрессивной сегмента ST и положительным тропонином Т устанавливался в соответствии с критериями Европейского общества кардиологов [9]. Критерии исключения: сопутствующие сахарный диабет, тяжелая патология (почечная недостаточность, последствия инсульта), сердечная недостаточность III стадии, кардиогенный шок при поступлении в стационар, отсутствие информированного согласия. Всем больным была проведена реперфузионная терапия в виде чрескожного коронарного вмешательства или тромболитической терапии. В дальнейшем больные получали терапию антитромбоцитарными препаратами (АСК, клопидогрел), β -адреноблокаторами, ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента, статинами.

Контрольная группа сформирована из 50 относительно здоровых добровольцев без сердечно-сосудистых заболеваний (все испытуемые были обследованы на наличие сердечно-сосудистых заболеваний), сопоставимых по полу и возрасту — средний возраст $56,9 \pm 1,4$ года, 27 мужчин и 23 женщины. Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики и принципами Хельсинкской Декларации. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом. До включения в исследование у всех участников было получено письменное информированное согласие.

Все больные до начала лечения и реваскуляризации были обследованы на резистентность к АСК и, соответственно, разделены на группы АЧ и АР. Оценка АР/АЧ

Таблица 1

Показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у АЧ и АР больных с ОКС (Ме, $C_{25}-C_{75}$)

Показатели	Контроль n=50		АЧ больные n=34		АР больные n=19	
	1		2		3	
	Ме	$C_{25}-C_{75}$	Ме	$C_{25}-C_{75}$	Ме	$C_{25}-C_{75}$
Тромбоциты, $10^9/л$	215,0	187,0-242,0	216,0	200,0-240,0	184,5	180,0-207,5
					$p_1=0,048$ $p_2=0,010$	
САТ, усл. ед.	1,33	1,17-1,64	1,50	1,22-1,95	1,72	1,28-2,72
АТ с АДФ 0,1 мкМ, усл. ед.	1,72	1,48-2,26	2,06	1,72-3,02	3,21	1,50-3,81
					$p_1=0,049$	
АТ с АДФ 5 мкМ, %	38,3	25,0-48,7	32,6	26,2-35,1	24,4	21,1-29,8
					$p_1<0,036$	
АТ с адреналином 10 мкг/мл, %	36,9	21,2-47,9	13,9	9,2-22,9	12,5	9,1-25,5
			$p_1<0,001$		$p_1<0,001$	
ФВ, %	112,0	98,0-128,0	149,0	89,0-167,0	159,0	108,0-190,0
					$p_1=0,015$	

Примечание: p_1 — статистически значимые различия с контролем, p_2 — статистически значимые различия между АР и АЧ пациентами.

к АСК осуществлялась *in vitro* путем последовательного инкубирования обогащенной тромбоцитами плазмы с 5 мкМ аденозиндифосфата (АДФ) и 3,36 мМ АСК и определения уровня агрегации тромбоцитов (АТ) после каждого инкубирования. Сущность определения заключалась в том, что у больных до начала терапии АСК исследовали АДФ-индуцированную и АСК-зависимую АТ, и по их разнице определяли величину коэффициента ингибирования агрегации (КИА); величина КИА $<24\%$ свидетельствует о АР, при КИА $\geq 24\%$ — о АЧ [10].

Изучались показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза: АТ, спонтанная (САТ) и индуцированная, с применением в качестве индукторов АДФ в дозах 0,1 мкМ и 5 мкМ и адреналина в дозе 10 мкг/мл на агрегометре "LA230-2 БИОЛА" (Россия). Определялась концентрация фактора Виллебранда (ФВ) в плазме крови. Исследовались следующие показатели плазменного гемостаза: содержание фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), уровень Д-димера, тромбиновое время (ТВ), растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), антитромбина III (АТ III) на анализаторе "STA-COMPACT" (Швейцария).

В качестве показателей функциональной активности нейтрофилов была исследована кинетика люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ) в связи с тем, что синтез первичных и вторичных активных форм кислорода отражает состояние "респираторного взрыва" клеток, который развивается при их взаимодействии с объектом фагоцитоза, и интегрально характеризует уровень фагоцитоза и внешнего киллинга нейтрофилов [11-13]. Исследование спонтанной и зимозан-индуцированной люминол-зависимой ХЛ гранулоцитов крови осуществляли с помощью хемилюминесцентного анализатора "CL3606M" (СКТБ "Наука", Красноярск, Россия) [11]. Результаты ХЛ анализа характеризовали по следующим параметрам: время выхода на максимум интенсивности ХЛ (T_{max}), максимальное значение интенсивности ХЛ (I_{max}) и площадь под ХЛ кривой (S). Усиление ХЛ, индуцированной зимозаном, оценивали соотношением площади индуцированной (Синд) к площади спонтанной (Спонт) и определяли как индекс активации (Синд/Спонт).

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Ме) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 процентилей (C_{25} и C_{75}). Достоверность различий между показателями по непараметрическому U-критерию Манна-Уитни. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену (r). Статистический анализ осуществляли в пакете программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc. 2004).

Результаты

При исследовании состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза обнаружено, что только у АР больных с ОКС в периферической крови снижено содержание тромбоцитов как относительно контрольных значений, так и показателей, выявленных у АЧ пациентов (таблица 1). У АР больных с ОКС снижается уровень АДФ- (при дозе АДФ в 5 мкМ) и адреналин-индуцированной АТ по сравнению с контролем. Также особенностями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у АР больных с ОКС является увеличение уровня ФВ. У АЧ пациентов относительно контрольного диапазона отмечается снижение АТ с адреналином.

Особенностей состояния коагуляционного гемостаза в зависимости от чувствительности к АСК у больных с ОКС не обнаружено (таблица 2). В обеих группах пациентов повышен уровень РФМК, удлинено ТВ, и снижено содержание Д-димеров.

Кинетика спонтанной люминол-зависимой ХЛ активности нейтрофильных гранулоцитов крови у больных с ОКС отличается от контрольной только увеличением времени выхода на максимум (таблица 3). Время выхода на максимум зимозан-индуцированной ХЛ нейтрофилов у пациентов с ОКС также увеличено. Однако только у АР больных обнаружено снижение Синд/Спонт как относительно

Таблица 2

Показатели коагуляционного гемостаза у АЧ и АР больных ОКС (Ме, С₂₅-С₇₅)

Показатели	Контроль n=50 1		АЧ больные n=34 2		АР больные n=19 3	
	Ме	С ₂₅ -С ₇₅	Ме	С ₂₅ -С ₇₅	Ме	С ₂₅ -С ₇₅
Фибриноген, г/л	2,90	2,63-3,39	3,41	2,58-3,97	2,89	2,68-5,07
РФМК, мг %	7,50	5,50-9,50	44,00	17,00-112,50	24,00	15,00-111,00
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001	
АТ III, %	97,5	89,0-103,0	94,5	90,0-104,0	101,0	73,0-111,0
ТВ, с.	15,70	14,70-16,80	20,60	17,50-27,50	21,20	19,40-25,20
			p ₁ <0,001		p ₁ <0,001	
АЧТВ, с.	35,10	32,80-36,50	33,45	30,20-37,30	36,00	34,20-41,80
Д-димер, нг/мл	220,0	168,0-220,0	22,0	14,0-79,0	68,50	12,50-223,00
			p ₁ <0,001		p ₁ =0,023	

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с контролем.

Таблица 3

Люминол-зависимая ХЛ активность
нейтрофильных гранулоцитов у АЧ и АР больных с ОКС (Ме, С₂₅-С₇₅)

Показатели	Контроль n=50 1		АЧ больные n=34 2		АР больные n=19 3	
	Ме	С ₂₅ -С ₇₅	Ме	С ₂₅ -С ₇₅	Ме	С ₂₅ -С ₇₅
Спонтанная ХЛ						
Тmax, с.	634,0	506,5-1332,5	1913,0	1092,0-2594,0	1957,0	1595,0-2137,0
			p ₁ =0,049		p ₁ =0,014	
Imax, о.е. × 10 ³	45,21	12,60-61,59	31,73	17,85-56,16	52,04	35,39-68,58
S, о.е. × с. × 10 ⁶	3,21	1,43-8,51	5,23	3,28-70,70	5,46	4,02-14,98
Зимозан-индуцированная ХЛ						
ХЛ Тmax, с.	664,0	580,0-1285,5	1091,0	987,0-1819,0	1559,0	1374,0-1692,0
			p ₁ =0,041		p ₁ =0,041	
ХЛ Imax, о.е. × 10 ³	64,69	23,01-118,70	81,12	31,53-118,15	61,95	30,43-109,96
S, о.е. × с. × 10 ⁶	6,74	1,23-23,50	8,52	5,71-170,80	5,52	4,42-34,61
Индекс активации	2,17	1,61-3,63	2,19	1,45-2,78	1,36	1,19-1,84
			p _{1,2} =0,040			

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с контролем, p₂ — статистически значимые различия между АР и АЧ пациентами, Тmax — время выхода на максимум интенсивности ХЛ, Imax — максимальное значение интенсивности ХЛ, S — площадь под хемилюминесцентной кривой, индекс активации — отношение S индуцированной зимозаном ХЛ/S спонтанной ХЛ.

контрольных значений, так и уровня, выявленного у АЧ больных с ОКС.

С помощью корреляционного анализа исследованы особенности взаимосвязи между показателями гемостаза и ХЛ активности нейтрофильных гранулоцитов у лиц контрольной группы и больных с ОКС. Обнаружено, что у лиц контрольной группы показатели ХЛ активности нейтрофилов взаимосвязаны только с параметрами сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. У лиц данной группы Тmax положительно коррелирует с количеством тромбоцитов (r=0,80, p=0,017) и отрицательно — с уровнем адреналин-индуцированной агрегации (r=-0,73, p=0,039), Тmax зимозан-индуцированной ХЛ отрицательно взаимосвязано с уровнем САТ (r=-0,71, p=0,048), АДФ-индуцированной (при дозе АДФ

в 5 мкМ) (r=-0,78, p=0,023) и адреналин-индуцированной (r=-0,85, p=0,007) АТ.

У АЧ больных с ОКС показатели ХЛ активности нейтрофильных гранулоцитов преимущественно коррелируют с параметрами коагуляционного гемостаза: время выхода на максимум индуцированной ХЛ положительно взаимосвязано с ТВ (r=0,47, p=0,042) и отрицательно — с уровнем АТ III (r=-0,62, p=0,005); уровень РФМК положительно взаимосвязан с площадью под кривой спонтанной (r=0,73, p<0,001) и зимозан-индуцированной (r=0,64, p=0,004) ХЛ. Единственная корреляционная взаимосвязь с показателями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у пациентов данной группы выявляется между максимумом интенсивности индуцированной ХЛ и уровнем ФВ (r=0,48, p=0,045).

У АР больных с ОКС между показателями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и ХЛ активностью нейтрофилов также выявляется одна корреляционная связь: индекс активации (Синд/Спонт) положительно коррелирует с АДФ-индуцированной (при дозе АДФ в 5 мкМ) АТ ($r=0,64$, $p=0,018$). У пациентов данной группы обнаружена положительная корреляционная связь между уровнем фибриногена и временем выхода на максимум спонтанной ХЛ ($r=0,56$, $p=0,047$). Уровень АТ III положительно взаимосвязан с площадью под кривой спонтанной ($r=0,71$, $p=0,007$) и зимозан-индуцированной ($r=0,85$, $p<0,001$) ХЛ и индексом активации ($r=0,69$, $p=0,009$). При этом количество Д-димеров отрицательно коррелирует с площадью под кривой спонтанной ($r=-0,64$, $p=0,048$) и зимозан-индуцированной ($r=-0,64$, $p=0,048$) ХЛ нейтрофильных гранулоцитов.

Обсуждение

Известно, что ОКС ассоциируется с повышенной реактивностью тромбоцитов в отличие от ИБС со стабильным течением [14]. АР наиболее часто наблюдается у больных ИМ[↑]ST, что коррелирует с высоким уровнем АДФ в крови. Это обусловлено генерализованной активацией тромбоцитов и высвобождением большого количества АДФ, тромбоксана, повышенным уровнем ФВ из-за повреждения эндотелиальных клеток. Кроме того, во время ишемии АДФ может высвобождаться и другими клетками: миоцитами, эндотелиальными клетками, эритроцитами, окончаниями симпатических нервов [8, 15].

При исследовании гемостаза обнаружено, что наиболее выраженные различия в зависимости от чувствительности к АСК у больных с ОКС выявляются со стороны сосудисто-тромбоцитарного звена. Особенностью сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у АР больных с ОКС является увеличение уровня АДФ-индуцированной АТ как при дозе АДФ в 0,1 мкМ, так и в 5 мкМ, что определяет повышенную готовность тромбоцитов к агрегации. При этом АР пациентов риск тромбообразования определяется тем, что на фоне пониженного количества тромбоцитов в периферической крови, в 1,4 раза повышается содержание ФВ. Независимо от чувствительности к АСК у больных ОКС значительно понижается адреналин-индуцированная АТ.

Состояние коагуляционного гемостаза при ОКС не различается у больных с различной чувствительностью к АСК и характеризуется активацией начальной стадии свертывания с увеличением длительности свертывания и значительным снижением содержания Д-димеров.

Особенность состояния “респираторного взрыва” у больных ОКС характеризуется увеличением Tmax спонтанной и индуцированной люминол-

зависимой ХЛ. Tmax отражает скорость развития “респираторного взрыва” в случае регуляторного или антигенного воздействия на фагоцитирующие клетки и определяется всем диапазоном активационного каскада, начиная с рецепторных процессов на внешней цитоплазматической мембране и заканчивая синтезом первичных и вторичных активных форм кислорода [11, 12, 16]. Следует отметить, что стимуляция нейтрофилов метаболитами, образующимися в очаге ишемии, активирует “респираторный взрыв” фагоцитов, в результате которого образуется большое количество свободных радикалов кислорода. Это приводит к повреждению эндотелия, разрушению факторов свертывания, способствует возникновению феномена “no-reflow” [17]. Снижение скорости “респираторного взрыва” нейтрофилов характеризует замедление их функциональной активации, что может быть связано с компенсаторными процессами при воспалительных реакциях, развивающихся у больных с ОКС.

Особенностью ХЛ реакции нейтрофильных гранулоцитов у АР пациентов с ОКС является снижение индекса активации. Спонтанная ХЛ характеризует интенсивность синтеза активных форм кислорода нейтрофилами в состоянии относительного покоя, определяющейся регуляторно-температурным воздействием инкубационной среды при термостатировании в кюветном отделении ХЛ анализатора. Введение в среду инкубации зимозана приводит к активации “респираторного взрыва”, что реализуется в виде высокого уровня синтеза первичных и вторичных активных форм кислорода [12]. Соответственно, индекс активации характеризует уровень метаболических резервов в нейтрофилах необходимых для развития “респираторного взрыва” при антигенной (зимозаном) стимуляции. Следовательно, у АР больных с ОКС метаболический потенциал нейтрофильных гранулоцитов крови для функциональной активации снижен, что может быть обусловлено компенсаторными процессами, направленными на ингибирование атеротромботического воспаления в условиях острой ишемии.

С помощью корреляционного анализа обнаружено, что если у лиц контрольной группы показатели кинетики “респираторного взрыва” взаимосвязаны только с параметрами сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, то в обеих группах больных с ОКС отмечаются корреляционные связи и с параметрами коагуляционного гемостаза. Причем, анализируя исследуемые корреляционные связи у лиц контрольной группы, можно определить следующий механизм тромбоцитарно-лейкоцитарного взаимодействия. Во-первых, показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза взаимосвязаны только с показателями, характеризующими скорость развития “респираторного взрыва”, что

определяется отсутствием воспалительных процессов и изменений со стороны гемостаза у здоровых людей. И, во-вторых, агрегационная активность тромбоцитов, как спонтанная, так и индуцированная, повышается при ускорении развития “респираторного взрыва” в диапазоне, выявляемом у здоровых людей.

Развитие воспалительных и тромбогенных процессов при ОКС значительно меняет корреляционные взаимосвязи между показателями гемостаза и функциональной активностью нейтрофильных гранулоцитов, которые в целом можно охарактеризовать следующим. Во-первых, появляются взаимосвязи между показателями коагуляционного гемостаза и функциональной активностью нейтрофильных гранулоцитов. Во-вторых, значительно уменьшается количество взаимосвязей между показателями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и функциональной активностью нейтрофилов. Причем, между показателями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и параметрами “респираторного взрыва” у больных с ОКС определяются положительные корреляционные связи. У АЧ больных уровень ФВ положительно коррелирует с максимумом интенсивности зимозан-индуцированной ХЛ, что отражает положительную взаимосвязь между увеличением тромбогенной активности и функциональной активностью нейтрофилов. У АР больных отмечена прямая зависимость между АДФ-индуцированной АТ и уровнем метаболических резервов

в нейтрофилах необходимых для развития “респираторного взрыва”.

В то же время, в корреляционных связях показателей коагуляционного гемостаза и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов существуют особенности в зависимости от АР. У АЧ пациентов показатели спонтанной и индуцированной ХЛ нейтрофилов взаимосвязаны преимущественно с показателями, характеризующими процессы свертывания (ТВ и РФМК), тогда как у АР больных с ОКС — с показателями фибринолитической (Д-димеры) и антикоагуляционной (АТ III) активности.

Заключение

Таким образом, механизм недостаточного ответа на АСК обусловлен не только метаболически-рецепторным состоянием тромбоцитов в условиях острой ишемии, но также зависит от функционального состояния нейтрофилов и других компонентов гемостаза. Можно предполагать наличие взаимосвязи между вторичной резистентностью тромбоцитов к АСК и системным воспалением при ОКС. Не исключено, что применение болюсных доз АСК и других дезагрегантов (клопидогрела/тикагрелора) позволяет воздействовать не только на рецепторы тромбоцитов, но и на тромбоцитарно-нейтрофильную ассоциацию уменьшая проявления системного воспаления и тем самым понижая остаточную агрегационную активность тромбоцитов.

Литература

- Bae MH, Lee JH, Yang DH, et al. White blood cell, hemoglobin and platelet distribution width as short-term prognostic markers in patients with acute myocardial infarction. *J Korean Med Sci* 2014; 29(4): 519-26.
- Nahrendorf M, Swirski FK. Imaging systemic inflammation in patients with acute myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Imaging* 2014; 7(5): 762-4.
- Yoshizaki T, Umetani K, Ino Y, et al. Activated inflammation is related to the incidence of atrial fibrillation in patients with acute myocardial infarction. *Intern Med* 2012; 51(12): 1467-71.
- Becatti M, Fiorillo C, Gori AM, et al. Platelet and leukocyte ROS production and lipoperoxidation are associated with high platelet reactivity in Non-ST elevation myocardial infarction (NSTEMI) patients on dual antiplatelet treatment. *Atherosclerosis* 2013; 231(2): 392-400.
- Schmalbach B, Stepanow O, Jochens A, et al. Determinants of Platelet-Leukocyte Aggregation and Platelet Activation in Stroke. *Cerebrovasc Dis* 2015; 39(3-4): 176-80.
- Sexton TR, Wallace EL, Macaulay TE, et al. The Effect of Rosuvastatin on Platelet-Leukocyte Interactions in the Setting of Acute Coronary Syndrome. *JACC* 2015; 65(3): 306-7.
- Kirtane AJ, Rinaldi M, Parise H, et al. Impact of Point-of-Care Platelet Function Testing among Patients with and without Acute Coronary Syndromes Undergoing PCI with Drug-Eluting Stents: an Adapt-Des Substudy. *JACC* 2012; 59:E291.
- Grinshtein Yul, Kosinova AA, Grinshtein Yu. The possible causes and mechanisms of development of secondary acetylsalicylic acid resistance. *Rossiiskie medicinskie vesti* 2013; 2: 4-13. Russian (Гринштейн Ю.И., Косинова А.А., Гринштейн Ю.И. Возможные причины и механизмы развития вторичной резистентности к ацетилсалициловой кислоте. *Российские медицинские вести* 2013; 2: 4-13).
- ESC Guidelines For the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011; 32: 2999-3054.
- Grinshtein Yul, Filonenko IV, Savchenko AA, et al. A method for diagnosing resistance to acetylsalicylic acid. Patent № 2413953 Russia, МПК G01N 33/86 (2006.01). Published 10.03.2009, Bul. № 7: 8 p. Russian (Гринштейн Ю.И., Филоненко И.В., Савченко А.А. и др. Способ диагностики резистентности к ацетилсалициловой кислоте. Патент № 2413953 РФ, МПК G01N 33/86 (2006.01). Оpubл. 10.03.2009, Бул. № 7: 8 с).
- Kolenchukova OA, Savchenko AA, Smirnova SV. Features of luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence of neutrophils in patients with chronic rhinosinusitis. *Medical immunology* 2010; 12(4-5): 437-40. Russian (Коленчукова О.А., Савченко А.А., Смирнова С.В. Особенности люминол- и люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов у больных хроническим риносинуситом. *Медицинская иммунология* 2010; 12(4-5): 437-40).
- Kurtasova LM, Savchenko AA, Shkapova EA. Clinical aspects of neutrophil granulocytes functional disorders in cancer pathology. Novosibirsk: Nauka 2009; 183 p. Russian (Куртасова Л.М., Савченко А.А., Шкапова Е.А. Клинические аспекты функциональных нарушений нейтрофильных гранулоцитов при онкопатологии. Новосибирск: Наука 2009; 183 с).
- Braga PC, Dal Sasso M, Lattuada N, et al. Antioxidant activity of hyaluronic acid investigated by means of chemiluminescence of equine neutrophil bursts and electron paramagnetic resonance spectroscopy. *J Vet Pharmacol Ther* 2015; 38(1): 48-54.
- Borna C, Lazarowski E, van Heusden C, et al. Resistance to aspirin is increased by ST-elevation myocardial infarction and correlates with adenosine diphosphate levels. *Thromb J* 2005; 3: 10.
- Chakroun T, Gerotziakas, Robert F, et al. In vitro aspirin resistance detected by PFA-100 closure time: pivotal role of plasma von Willebrand factor. *Br J Haematol* 2004; 124 (1): 80-5.
- Shimohina NJu, Savchenko AA, Petrova MM, et al. Features of the hemostatic system and chemiluminescent activity of neutrophilic granulocytes in patients with acute coronary syndrome. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie* 2012; 6: 21-4. Russian (Шимохина Н.Ю., Савченко А.А., Петрова М.М. и др. Особенности системы гемостаза и хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у больных острым коронарным синдромом. *Сибирское медицинское обозрение* 2012; 6: 21-4).
- Ito H. No-reflow phenomenon and prognosis in patients with acute myocardial infarction. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006; 3: 499-506.