

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ГЕМОСТАЗА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЕ ПРИ ОСТРОМ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА

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

Цель. Изучить в динамике особенности гемостаза и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с острым инфарктом миокарда (ОИМ) чувствительных и резистентных к ацетилсалициловой кислоте (АСК).

Материал и методы. В исследование включены 53 пациента в первые 24 часа от развития ОИМ. Контрольная группа сформирована из 50 относительно здоровых добровольцев. Все пациенты до начала лечения и реваскуляризации были обследованы на резистентность к АСК и разделены на группы чувствительных (ЧКАСК) и резистентных (РКАСК) к ацетилсалициловой кислоте. В комплексной терапии присутствовала двойная антиагрегационная терапия (АСК+клопидогрель). Изучались показатели сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза. Методом хемилюминесцентного анализа исследовалась функциональная активность нейтрофилов.

Результаты. У РКАСК пациентов ОИМ в 1-е и на 10-е сутки выявляется увеличение уровня АДФ-зависимой агрегации тромбоцитов (при дозе АДФ в 0,1 мкМ) и повышение уровня фактора Виллебранда. На 10-е сутки у ЧКАСК пациентов снижается уровень АДФ-зависимой агрегации тромбоцитов (при дозе АДФ в 5 мкМ), повышается содержание фактора Виллебранда. Независимо от чувствительности к АСК у пациентов ОИМ повышен уровень РФМК, удлиняется тромбиновое время и снижено содержание Д-димеров. Кинетика хемилюминесценции нейтрофилов пациентов с ОИМ отличается от контрольной группы только увеличением времени выхода на максимум. У резистентных к АСК пациентов в 1-е сутки обследования обнаружено снижение индекса активации нейтрофилов, величина которого на 10-е сутки лечения нормализуется.

Заключение. У РКАСК пациентов с ОИМ наблюдается повышение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, снижение их количества и увеличение уровня фактора Виллебранда. Риск тромбообразования у РКАСК на 10-е сутки лечения обусловлен сохраняющимся нарушением сосудисто-тромбоцитарного гемостаза и повышенной спонтанной агрегацией тромбоцитов. Состояние коагуляционного гемостаза на 1-е и 10-е сутки ОИМ характеризуется активацией начальной стадии свертывания с увеличением длительности свертывания и значительным снижением содержания Д-димеров. При ОИМ выявляется замедленная скорость развития "респираторного взрыва" в нейтрофильных гранулоцитах, что, по-видимому, связано с компенсаторными процессами в организме и двойной антиагрегационной терапией, обладающей противовоспалительным действием.

Ключевые слова: острый инфаркт миокарда, ацетилсалициловая кислота, тромбоциты, агрегация, нейтрофилы, хемилюминесцентная активность.

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

Гринштейн И. Ю.* — к.м.н., ассистент кафедры поликлинической терапии, семейной медицины и здорового образа жизни с курсом ПО, Савченко А. А. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой физиологии им. профессора А. Т. Пшоники, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии, Гринштейн Ю. И. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии ИПО, засл. врач РФ, 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, Гвоздев И. И. — м.н.с. лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
grinstein.yi@mail.ru

ОКС — острый коронарный синдром, ОИМ — острый инфаркт миокарда, АТ — агрегация тромбоцитов, АДФ — аденозиндифосфат, САТ — спонтанная агрегация тромбоцитов, АСК — ацетилсалициловая кислота, РКАСК — резистентные к АСК, ЧКАСК — чувствительные к АСК, КИА — коэффициент ингибирования агрегации, ФВ — фактор Виллебранда, АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время, ТВ — тромбиновое время, РФМК — растворимые фибрин-мономерные комплексы, АТ III — антитромбин III, ХЛ — хемилюминесценция, Тmax — время выхода на максимум интенсивности ХЛ, I_{max} — максимальное значение интенсивности ХЛ, S — площадь под хемилюминесцентной кривой, S индуцированная зимозаном ХЛ/S спонтанная ХЛ — индекс активации.

Рукопись получена 13.01.2016
Рецензия получена 18.01.2016
Принята к публикации 25.01.2016

Российский кардиологический журнал 2016, 8 (136): 36–41
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2016-8-36-41>

DYNAMICS OF HEMOSTASIS AND NEUTROPHIL FUNCTIONAL ACTIVITY CHANGES IN PATIENTS WITH VARIOUS SENSITIVITY TO ACETYLSALICYLIC ACID IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

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

Aim. To study in dynamics the specifics of hemostasis and functioning of neutrophilic granulocytes in patients with acute myocardial infarction (MI) sensitive and resistant to acetylsalicylic acid (ASC).

Material and methods. Totally, 53 patients included during first 24 hours from MI onset. Controls were 50 relatively healthy volunteers. All patients before treatment and revascularization were assessed for resistance to ASC and selected to groups as sensitive (SASC) and resistant (RASC). In complex therapy there was double antiplatelet therapy (ASC+clopidogrel). The parameters of vessel-platelet and plasma hemostasis were assessed. Via the chemiluminescent analysis we studied functional activity of neutrophils.

Results. In RASC patients with MI on 1st and 10th day we found increased ADP aggregation of thrombocytes (ADP 0,1 mcM) and increase of von Willebrand factor. On 10th day in SASC patients there was decrease of ADP aggregation (ADP 5 mcM), von Willebrand factor increases. Not related to ASC sensitivity, in MI patients there is

increase of SFMC, thrombin time is increased and D-dimer is low. Kinetics of chemiluminescence of neutrophils in MI patients differs from controls only by increased time of reached maximum. In ASC resistant patients on 1st day of evaluation there is decrease of neutrophil activation index, which gets to normal by 10th day of treatment.

Conclusion. In RASC MI patients there is increased ADP aggregation of platelets, decrease of platelets number and increase of von Willebrand factor levels. Thrombosis risk in RASC patients on 10th day of treatment is caused by remaining disordered vessel-platelet hemostasis and increased spontaneous platelets aggregation. Plasmatic hemostasis on 1st and 10th days of MI shows activated onset of clotting with increase of clotting duration and significant decrease of D-dimer. In MI there is slowed velocity of development of "respiratory boost" in neutrophilic granulocytes that is probably related to compensatory processes in organism and double antiplatelet therapy which is antiinflammatory as well.

Key words: acute myocardial infarction, acetylsalicylic acid, platelets, aggregation, neutrophils, chemiluminescent activity.

Изменения в гемостазе и активация воспалительных процессов тесно ассоциированы между собой, вследствие чего тромбоцитарно-лейкоцитарное взаимодействие становится ведущим в патогенезе острого коронарного синдрома (ОКС). При этом взаимодействии тромбоцитов и лейкоцитов реализуется различными механизмами: контактным путем (формирование агрегатов) и гуморальным (сигнальные коммуникации при участии различных биологически активных веществ) [1, 2].

Антитромбоцитарная терапия при ОКС предотвращает возможность активного тромбообразования, но зачастую имеет место недостаточный ответ на дезагреганты. В этих случаях речь идет о резистентности к антитромбоцитарным препаратам. Повышенная резистентность к ацетилсалициловой кислоте (АСК) и клопидогрелю наиболее часто наблюдается при инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST, что объясняет высокий риск развития ишемических осложнений у пациентов с ОКС по сравнению со стабильной ишемической болезнью сердца [3, 4]. Вместе с тем, роль воспаления и, в частности, функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в развитии вторичной резистентности при остром инфаркте миокарда (ОИМ) остается не ясной. Поэтому весьма перспективным представляется комплексное изучение показателей гемостаза и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у чувствительных и резистентных к АСК пациентов с ОИМ.

Целью исследования явилось изучение в динамике особенностей гемостаза и функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов у пациентов с ОИМ, чувствительных и резистентных к ацетилсалициловой кислоте (АСК).

В качестве показателей функциональной активности нейтрофилов исследована кинетика люминолзависимой хемилуминесценции 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 [5, 6].

Материал и методы

В исследование включены 53 пациента в первые 24 часа от развития ОИМ (средний возраст — 61,1±1,1 лет, 25 мужчин и 28 женщин). Критериями включения в исследование были: ОИМ у пациентов обоего пола в возрасте от 35 до 75 лет в первые 24 часа поступления в стационар от начала заболевания, не принимавших

¹V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk; ²SRI of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russia.

до госпитализации антиагреганты и антикоагулянты и подписавших информированное согласие. Диагноз ОКС, а в дальнейшем — острого инфаркта миокарда с элевацией или депрессией сегмента ST и положительным тропонином Т устанавливался в соответствии с критериями Европейского общества кардиологов [7]. Критерии исключения: сопутствующий сахарный диабет, тяжелая сопутствующая 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. В дальнейшем пациенты получали двойную антитромбоцитарную терапию (АСК 75-100 мг, клопидогрель 75 мг) после первичной болюсной дозы АСК (250-325 мг) и клопидогреля (300 мг), а также лечение β-адреноблокаторами, ингибиторами ангиотензинпревращающего 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±1,4 года, 27 мужчин и 23 женщины). Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской Декларации. Протокол исследования одобрен этическими комитетами участвующих клинических центров. 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 чувствительных и резистентных к АСК. Оценка резистентности/чувствительности 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 после каждого инкубирования. Сущность определения заключалась в том, что у пациентов до начала терапии АСК исследовали АДФ-индуцированную и АСК-зависимую агрегацию тромбоцитов и по разнице последних определяли величину коэффициента ингибирования агрегации (КИА). Величина КИА <24% свидетельствует о резистентности к АСК, при КИА ≥24% — о чувствительности к АСК [8].

Изучались показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза: агрегация тромбоцитов, спонтанная

Таблица 1

Динамика показателей сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у чувствительных и резистентных к АСК пациентов с ОИМ (Me, C₂₅-C₇₅)

Показатели	Контроль n=50 1	ЧкАСК, n=34		РкАСК, n=19	
		1-е сутки 2	10-е сутки 3	1-е сутки 4	10-е сутки 5
Тромбоциты, 109/л	215,0 (187,0-242,0)	216,0 (200,0-240,0)	250,0 (210,5-325,5) p ₂ =0,048	184,5 (180,0-207,5) p ₁ =0,048 p ₂ =0,010	180,0 (146-230,0) p ₃ =0,027
САТ, усл. ед.	1,33 (1,17-1,64)	1,50 (1,22-1,95)	1,625 (1,32-2,12)	1,72 (1,28-2,72)	1,60 (1,49-2,78) p ₁ =0,027
АТ с АДФ 0,1 мкМ, усл. ед.	1,72 (1,48-2,26)	2,06 (1,72-3,02)	2,07 (1,41-2,63)	3,21 (1,50-3,81) p ₁ =0,049	2,27 (1,92-3,53) p ₁ =0,040
АТ с АДФ 5 мкМ, %	38,3 (25,0-48,7)	32,6 (26,2-35,1)	23,7 (19,5-28,6) p ₁ =0,024 p ₂ =0,030	24,4 (21,1-29,8) p ₁ =0,036	19,2 (16,1-22,9) p ₁ =0,007
АТ с адреналином, 10 мкг/мл, %	36,9 (21,2-47,9)	13,9 (9,2-22,9) p ₁ =0,017	19,55 (10,9-26,3) p ₁ =0,003	12,5 (9,1-25,5) p ₁ =0,033	13,8 (8,3-25,6) p ₁ =0,008
Фактор Виллебранда, %	112,0 (98,0-128,0)	149,0 (89,0-167,0)	161,5 (121,6-177,0) p ₁ =0,003	159,0 (108,0-190,0) p ₁ <0,001	155,0 (149,0-185,1) p ₁ <0,001

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с контрольными показателями, p₂ — с показателями ЧкАСК пациентов на 1-е сутки обследования, p₃ — с показателями ЧкАСК пациентов на 10-е сутки лечения.

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). Определяли концентрацию фактора Виллебранда (ФВ) в плазме крови. Исследовали следующие показатели плазменного гемостаза: содержание фибриногена, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), уровень Д-димера, тромбиновое время (ТВ), растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК), антитромбин III (АТ III) на анализаторе “STA-COMPACT” (Швейцария).

Исследование спонтанной и зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции (ХЛ) гранулоцитов крови осуществляли с помощью хемилюминесцентного анализатора “CL3606M” (СКТБ “Наука”, Красноярск, Россия) [5]. Результаты хемилюминесцентного анализа характеризовали по следующим параметрам: время выхода на максимум интенсивности ХЛ (Tmax), максимальное значение интенсивности ХЛ (Imax) и площадь (S) под хемилюминесцентной кривой. Усиление ХЛ, индуцированной зимозаном, оценивали соотношением площади, индуцированной (Sинд) к площади спонтанной (Спонт) и определяли как индекс активации.

Исследование системы гемостаза и функциональной активности нейтрофилов проводилось в первые 24 часа после госпитализации пациентов в палату интенсивной терапии и в динамике — на 10-е сутки.

Описание выборки проводили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 перцентилей (C₂₅ и C₇₅). Достоверность различий между показателями независимых выборок (сравнение с показателями контрольной группы) оценивали по непараметрическому критерию Манна-

Уитни. Достоверность различий между показателями зависимых выборок (сравнение в каждой группе больных между 1- и 10-ми сутками обследования) оценивали по непараметрическому критерию Вилкоксона. Статистический анализ осуществляли в пакете программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc. 2004).

Результаты

При исследовании состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза обнаружено, что только у резистентных к АСК пациентов в периферической крови в 1-е сутки обследования снижено содержание тромбоцитов как относительно контрольных значений, так и показателей, выявленных у чувствительных к АСК пациентов ОИМ (табл. 1). При этом у ЧкАСК пациентов ОИМ на 10-е сутки лечения количество тромбоцитов в крови повышается относительно исходного уровня, тогда как у РкАСК пациентов — не изменяется. Уровень спонтанной агрегации тромбоцитов у РкАСК пациентов на фоне терапии повышается относительно контрольных значений. Только у РкАСК пациентов ОИМ в 1-е и 10-е сутки лечения выявляется увеличение уровня АДФ-зависимой агрегации тромбоцитов (при дозе АДФ в 0,1 мкМ) относительно контрольного диапазона. На 10-е сутки лечения у ЧкАСК пациентов снижается уровень АДФ-зависимой агрегации тромбоцитов (при дозе АДФ в 5 мкМ), относительно контрольного и исходного диапазона, а также повышается содержание фактора Виллебранда по отношению к контролю. У РкАСК пациентов на 1-е и 10-е сутки обследования уровень АДФ-зависимой агрегации тромбоцитов (при дозе АДФ в 5 мкМ) снижен относительно контрольных значений, а также повышено содержание фактора Виллебранда. Независимо от чувствительности к АСК

Таблица 2

**Динамика показателей коагуляционного гемостаза
у чувствительных и резистентных к АСК пациентов с ОИМ (Ме, С₂₅-С₇₅)**

Показатели	Контроль n=50 1	ЧкАСК, n=34		РкАСК, n=19	
		1-е сутки 2	10-е сутки 3	1-е сутки 4	10-е сутки 5
Фибриноген, г/л	2,90 (2,63-3,39)	3,41 (2,58-3,97)	4,27 (3,07-5,05) p ₁ =0,001	2,89 (2,68-5,07)	3,76 (2,91-5,35) p ₁ =0,049 p ₄ =0,026
РФМК, мг %	7,50 (5,50-9,50)	44,00 (17,00-112,50) p ₁ <0,001	46,00 (28,00-184,00) p ₁ <0,001	24,00 (15,00 -111,00) p ₁ <0,001	45,50 (15,00-169,00) p ₁ <0,001 p ₄ =0,002
Антитромбин III, %	97,5 (89,0-103,0)	94,5 (90,0-104,0)	104,0 (98,0-117,0) p ₁ =0,012 p ₂ =0,036	101,0 (73,0-111,0)	100,0 (91,0-113,0)
ТВ, сек.	15,70 (14,70-16,80)	20,60 (17,50-27,50) p ₁ <0,001	17,35 (16,80-20,11) p ₁ <0,001	21,20 (19,40-25,20) p ₁ <0,001	17,40 (16,40-19,70) p ₁ =0,018 p ₄ =0,049
АЧТВ, сек.	35,10 (32,80-36,50)	33,45 (30,20-37,30)	30,10 (27,60-36,25) p ₁ =0,009 p ₂ =0,014	36,00 (34,20-41,80)	29,60 (26,50-31,90) p ₁ <0,001 p ₄ =0,018
Д-димеры, нг/мл	220,0 (168,0-220,0)	22,0 (14,0-79,0) p ₁ <0,001	25,0 (16,0-124,0) p ₁ =0,002	68,50 (12,50-223,00) p ₁ =0,023	101,0 (24,0-222,0) p ₁ =0,043 p ₃ =0,012

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с контрольными показателями, p₂ — с показателями ЧкАСК пациентов на 1-е сутки обследования, p₃ — с показателями ЧкАСК пациентов на 10-е сутки лечения, p₄ — с показателями РкАСК пациентов на 1-е сутки обследования.

у пациентов с ОИМ значительно понижается адреналин-индуцированная агрегация тромбоцитов.

Исследование состояния коагуляционного гемостаза пациентов с ОИМ позволило установить, что на 10-е сутки лечения у ЧкАСК и РкАСК пациентов повышается содержание фибриногена в плазме крови и снижается уровень АЧТВ (табл. 2). Только у ЧкАСК пациентов на 10-е сутки лечения снижается содержание АТ III относительно исходных и контрольных значений. Независимо от чувствительности к АСК у пациентов с ОИМ на всем диапазоне обследования повышен уровень РФМК, удлиняется тромбиновое время и снижено содержание Д-димеров. Однако у РкАСК пациентов на 10-е сутки лечения наблюдается дополнительное повышение уровня РФМК и сокращается ТВ относительно исходного диапазона, а также выявляется снижение количества Д-димеров относительно значений, выявленных в этот же период у ЧкАСК больных.

Кинетика спонтанной люминол-зависимой хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов крови при ОИМ отличается от контрольной только увеличением времени выхода на максимум и не зависит от чувствительности к АСК (табл. 3). Время выхода на максимум зимозан-индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов у пациентов с ОИМ также увеличено. Однако только у резистентных к АСК пациентов в 1-е сутки обследования обнаружено снижение индекса активации как относительно контрольных значений, так и уровня, выявленного в этот же период у ЧкАСК больных ОИМ. На 10-е сутки лечения у РкАСК пациентов снижается максимум спонтанной хемилюминесценции и, соответственно, нормализуется индекс активации.

Обсуждение

Известно, что ОИМ ассоциируется с повышенной реактивностью тромбоцитов в отличие от стабильного течения ИБС [9]. Резистентность к АСК наиболее часто наблюдается у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, что коррелирует с высоким уровнем АДФ в крови, обусловленным генерализованной активацией тромбоцитов и высвобождением большого количества АДФ, тромбосана, повышенным уровнем фактора Виллебранда из-за повреждения эндотелиальных клеток. Кроме того, во время ишемии АДФ может высвобождаться и другими клетками: миоцитами, эндотелиальными клетками, эритроцитами, окончаниями симпатических нервов [3, 10].

При исследовании обнаружено, что наиболее выраженные различия в зависимости от чувствительности к АСК у пациентов с ОИМ выявляются со стороны сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза. Особенностью сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у резистентных к АСК пациентов, в первые 24 часа ОИМ, является увеличение уровня АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов при дозе АДФ в 0,1 мкМ, что определяет повышенную готовность тромбоцитов к агрегации. Риск тромбообразования увеличивается также за счет того, что на фоне пониженного количества тромбоцитов в периферической крови, в 1,4 раза повышается содержание фактора Виллебранда. Через 10 дней, на фоне двойной анти-тромбоцитарной терапии у резистентных к АСК пациентов сохраняется высокий уровень АДФ-индуцированной (при дозе 0,1 мкМ) агрегации тромбоцитов и пониженное содержание тромбоцитов при повышенном количестве фактора Виллебранда. Кроме того, у пациентов данной группы на 10-е сутки

Таблица 3

Динамика хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов у чувствительных и резистентных к АСК пациентов с ОИМ (Ме, С₂₅-С₇₅)

Показатели	Контроль n=50 1	ЧкАСК, n=34		РкАСК, n=19	
		1-е сутки 2	10-е сутки 3	1-е сутки 4	10-е сутки 5
Спонтанная ХЛ					
Tmax, сек.	634,0 (506,5-1332,5)	1913,0 (1092,0-2594,0)	2300,5 (1793,5-3070,5)	1957,0 (1595,0-2137,0)	2392,0 (1996,0-2850,5)
		p ₁ =0,049	p ₁ =0,003	p ₁ =0,014	p ₁ =0,008
lmax, о.е.×10 ³	45,21 (12,60-61,59)	31,73 (17,85-56,16)	21,31 (15,81-67,08)	52,04 (35,39-68,58)	16,56 (13,87-34,92)
					p ₁ =0,047 p ₄ =0,042
S, о.е.×сек.×10 ⁶	3,21 (1,43-8,51)	5,23 (3,28-70,70)	4,57 (2,67-6,04)	5,46 (4,02-14,98)	4,32 (2,00-28,18)
Зимозан-индуцированная ХЛ					
Tmax, сек.	664,0 (580,0-1285,5)	1091,0 (987,0-1819,0)	1425,5 (1129,5-1850,5)	1559,0 (1374,0-1692,0)	1759,0 (1146,5-2189,0)
		p ₁ =0,041	p ₁ =0,011	p ₁ =0,041	p ₁ =0,023
lmax, о.е.×10 ³	64,69 (23,01-118,70)	81,12 (31,53-118,15)	68,57 (57,22-95,42)	61,95 (30,43-109,96)	41,55 (18,15-75,71)
S, о.е.×сек.×10 ⁶	6,74 (1,23-23,50)	8,52 (5,71-170,80)	9,32 (6,04-13,67)	5,52 (4,42-34,61)	5,89 (1,86-8,23)
Синд./Спонт.	2,17 (1,61-3,63)	2,19 (1,45-2,78)	2,28 (1,52-3,29)	1,36 (1,19-1,84)	1,57 (1,07-2,33)
				p _{1,2} =0,040	

Примечание: p₁ — статистически значимые различия с контрольными показателями, p₂ — с показателями ЧкАСК пациентов на 1-е сутки обследования, p₃ — с показателями ЧкАСК пациентов на 10-е сутки лечения, p₄ — с показателями РкАСК пациентов на 1-е сутки обследования.

лечения повышается уровень спонтанной агрегации тромбоцитов.

У чувствительных к АСК пациентов при лечении на 15,7% повышается содержание тромбоцитов и возрастает уровень фактора Виллебранда.

В 1-е сутки обследования пациентов с ОИМ состояние коагуляционного гемостаза не различается в зависимости от чувствительности к АСК и характеризуется активацией начальной стадии свертывания с увеличением длительности свертывания и значительным снижением содержания Д-димеров. На 10-е сутки лечения также независимо от чувствительности к АСК у обследованных пациентов на фоне короткого ТВ, повышенного количества РФМК и низкого уровня Д-димеров увеличивается содержание фибриногена и укорачивается АЧТВ. Только у чувствительных к АСК пациентов с ОИМ при лечении повышается содержание АТ III. В целом, исходя из сниженного ТВ и АЧТВ, можно заключить, что у пациентов с ОИМ сохраняется повышенный риск тромбообразования. Однако повышение количества АТ III у пациентов с чувствительностью к АСК отражает увеличение антикоагуляционной активности крови.

Особенностью состояния “респираторного взрыва” в нейтрофилах крови у пациентов с ОИМ в 1-е сутки обследования является увеличение длительности выхода на максимум спонтанной и индуцированной люминол-зависимой ХЛ. Время выхода на максимум 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 [5, 6]. 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” [11]. Снижение скорости “респираторного взрыва” нейтрофилов характеризует замедление их функциональной активации, что может быть связано с компенсаторными процессами при воспалительных реакциях, развивающихся при ОИМ.

Особенностью хемилюминесцентной реакции нейтрофильных гранулоцитов у резистентных к АСК пациентов с ОИМ является снижение индекса активации. Спонтанная ХЛ характеризует интенсивность синтеза активных форм кислорода нейтрофилами в состоянии относительного покоя, определяющей регуляторно-температурным воздействием инкубационной среды при термостатировании в кюветном отделении хемилюминесцентного анализатора. Введение в среду инкубации зимозана приводит к активации “респираторного взрыва”, что реализуется в виде высокого уровня синтеза первичных и вторичных активных форм кислорода [5]. Соответственно, индекс активации характеризует уровень метаболических резервов в нейтрофилах, необходимых для развития “респираторного взрыва” при антигенной (зимозаном) стимуляции. Следовательно, у резистентных к АСК пациентов с ОИМ снижен метаболический потенциал нейтрофильных гранулоцитов

крови для функциональной активации. Снижение метаболического потенциала нейтрофильных гранулоцитов при активации, вероятно обусловлено истощением функциональной активности клеток в результате респираторного взрыва на фоне острой ишемии, а также применением двойной антитромбоцитарной терапии, обладающей противовоспалительным действием. Не исключено, что нейтрофильные гранулоциты реализовали свой потенциал по синтезу активных форм кислорода на высоте острой ишемии и некроза миокарда 12-24 часа тому назад и на момент исследования находятся в фазе метаболического истощения. Возможно, понижение метаболического потенциала нейтрофильных гранулоцитов крови — это генетически детерминированная защита от повреждения миокарда в условиях острой ишемии у резистентных к АСК пациентов. Однако эта гипотеза требует своего подтверждения.

Через 10 суток лечения у РКАСК пациентов с ОИМ выявляется снижение интенсивности спонтанного “респираторного взрыва”, что приводит к нормализации индекса активации. В то же время, независимо от чувствительности к АСК, у больных ОИМ сохраняется удлинение времени выхода на максимум спонтанной и индуцированной ХЛ нейтрофилов крови.

В общем кровотоке тромбоциты вступают в контакт с циркулирующими лейкоцитами [12], что не исключает триггерную роль нейтрофильных гранулоцитов в развитии вторичной резистентности к антитромбоцитарным препаратам в условиях острой ишемии. Следует отметить, что, несмотря на применение двойной антитромбоцитарной терапии (АСК+клопидогрель) при ОИМ на 10-е сутки сохраняется риск тромбообразования, наиболее ярко выраженный у резистентных к АСК пациентов в виде повышенной агрегации тромбоцитов, не нивелируе-

мой комбинацией АСК с клопидогрелем и повышение уровня фактора Виллебранда.

Заключение

Проведенное исследование показало наличие достоверных отличий в показателях тромбоцитарно-сосудистого гемостаза у резистентных и чувствительных к АСК пациентов с ОИМ. У резистентных к АСК пациентов, несмотря на применение двойной антитромбоцитарной терапии, в течение 10 дней отмечается повышение АДФ-индуцированной агрегационной способности тромбоцитов, снижение их количества и повышение уровня фактора Виллебранда. На 10-е сутки лечения отмечается повышение спонтанной агрегации тромбоцитов. Данные изменения ассоциированы со снижением функциональной активности нейтрофилов в 1-е сутки ОИМ. Изменения коагуляционного гемостаза у резистентных и чувствительных к АСК пациентов носят однонаправленный характер и характеризуются активацией начальной стадии свертывания с увеличением длительности свертывания и значительным снижением содержания Д-димеров. Однако у чувствительных к АСК пациентов с ОИМ в конце периода наблюдения выявляется повышение содержания АТ III. При ОИМ выявляется замедленная скорость развития “респираторного взрыва” в нейтрофильных гранулоцитах, что, по-видимому, обусловлено воздействием комбинации АСК и клопидогреля, способных не только понижать агрегацию тромбоцитов, но и оказывать противовоспалительное действие при атеротромбозе. Возможная роль нейтрофильных гранулоцитов в генезе резистентности к АСК при ОИМ требует дальнейшего изучения. Применение двойной антитромбоцитарной терапии у пациентов, резистентных к АСК, не исключает риск тромбообразования.

Литература

1. 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.
2. Sexton TR, Wallace EL, Macaulay TE, et al. The Effect of Rosuvastatin on Platelet-Leukocyte Interactions in the Setting of Acute Coronary Syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015; 65(3): 306-307.
3. 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 И. Ю. Возможные причины и механизмы развития вторичной резистентности к ацетилсалициловой кислоте. *Российские медицинские вести* 2013; 2: 4-13).
4. 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. *J. Am. Coll. Cardiol* 2012; 59: E291.
5. Savchenko AA, Zdzitoveckij Dje, Borisov AG, et al. Chemiluminescent and enzymatic activity of neutrophils in patients with generalized purulent peritonitis depending on the outcome of the disease. *Annals of the Russian academy of medical sciences* 2014; 5-6: 23-8. Russian (Савченко А. А., Здзитовецкий Д. Э., Борисов А. Г. и др. Хемилюминесцентная и ферментативная активность нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом в зависимости от исхода заболевания. *Вестник РАМН* 2014; 5-6: 23-8).
6. Shkapova EA, Kurtasova LM, Savchenko AA. Indicators of lucigenin- and luminol-dependent chemiluminescence of neutrophils in the blood of patients with kidney cancer. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 2010; 149: 201-3. Russian (Шканова Е. А., Куртасова Л. М., Савченко А. А. Показатели люцигенин- и люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных раком почки. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 2010; 149: 201-3).
7. 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). *European Heart Journal* 2011; 32: 2999-3054.
8. Grinshtein Yul, Filonenko IV, Savchenko AA, et al. A method for diagnosing resistance to acetylsalicylic acid. Patent № 2413953 Russia, MPK 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). Опубл. 10.03.2009, Бюл. № 7: 8 с).
9. 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.
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.
11. Ito H. No-reflow phenomenon and prognosis in patients with acute myocardial infarction. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 2006; 3: 499-506.
12. McRedmond JP, Park SD, Reilly DF, et al. Integration of proteomics and genomics in platelets: a profile of platelets proteins and platelet specific genes. *Mol. Cell. Proteomics.* 2004; 3(2): 133-44.