

25. Narkevich AN. Algorithms for segmenting digital microscopic images of sputum stained by the method of Ziehl-Nielsen. World Science: Proceedings of articles the international scientific conference. Kirov: MCNIP LLC; 2017:431-36. (In Russian)

Сведения об авторах

Наркевич Артем Николаевич, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2200389; e-mail: narkevichart@gmail.com

Виноградов Константин Анатольевич, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2200389; e-mail: vinogradov16@yandex.ru

Корецкая Наталья Михайловна, Медико-санитарная часть № 24 Федеральной службы

исполнения наказаний; адрес: 660036, г. Красноярск, ул. Академгородок, д. 56а, стр. 1; тел.: +7(391)2205048; e-mail: fkuzmsch24@mail.ru

Information about the authors

Narkevich Artem N., Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(391)2200389; e-mail: narkevichart@gmail.com

Vinogradov Konstantin A., Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(391)2200389; e-mail: vinogradov16@yandex.ru

Koretskaya Nataliya M., Medical-sanitary Department № 24; Address: 56a, Akademgorodok str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Phone: +7(391)2205048; e-mail: fkuzmsch24@mail.ru

Поступила 24.08.2017 г.

Принята к печати 13.09.2017 г.

© САВЧЕНКО А. А., ГРИНШТЕЙН Ю. И., ГРИНШТЕЙН И. Ю., ГВОЗДЕВ И. И., ПЕТРОВА М. М.

УДК 616.12 : 577.1 : 547.587.11

DOI: 10.20333/2500136-2017-5-59-66.

ЗАВИСИМОСТЬ МЕТАБОЛИЗМА ТРОМБОЦИТОВ ОТ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ

А. А. Савченко^{1,2}, Ю. И. Гринштейн¹, И. Ю. Гринштейн¹, И. И. Гвоздев², М. М. Петрова¹

¹Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

²Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера», Красноярск 660022, Российская Федерация

Цель исследования. Изучение особенностей взаимосвязи между показателями гемостаза и функциональной активности нейтрофилов у больных с разной чувствительностью к ацетилсалициловой кислоте (АСК) при остром коронарном синдроме (ОКС).

Материал и методы. Обследованы пациенты в первые 24 часа от развития ОКС. Все пациенты до начала лечения и реваскуляризации были обследованы на резистентность к АСК и разделены на группы чувствительных (АЧ) и резистентных к АСК (АР). Оценка резистентности/чувствительности к АСК осуществлялась *in vitro* путем последовательного инкубирования обогащенной тромбоцитами плазмы с АСК. Контрольная группа сформирована из 50 относительно здоровых добровольцев. Исследование активности дегидрогеназ в тромбоцитах проводили биolumинесцентным методом. Состояние респираторного взрыва нейтрофилов исследовали хемилюминесцентным методом.

Результаты. Метаболизм тромбоцитов у АЧ больных ОКС характеризуется ингибированием начальных реакций цикла трикарбоновых кислот и снижением НАДФ-зависимого субстратного обмена между реакциями аминокислотного обмена и лимонным циклом. У АР больных более выражен субстратный поток по циклу Кребса, но при ингибировании малатдегидрогеназной реакции. У АЧ пациентов выявляются минимальные изменения кинетики хемилюминесценции, которые определяются ускоренным синтезом первичных активных форм кислорода (АФК) при антигенной индукции и замедлением синтеза вторичных АФК. У АР больных ОКС состояние респираторного взрыва определяется понижением скорости синтеза первичных АФК, замедлением синтеза вторичных АФК и снижением индекса активации нейтрофилов. У АЧ пациентов уровни синтеза первичных и вторичных АФК зависят от интенсивности энергетических и антиоксидантных процессов, а также субстратными потоками на пентозофосфатный цикл и гликолиз. У АЧ больных ОКС интенсивность респираторного взрыва нейтрофилов сопоставимо меняется только активности энергетических процессов в тромбоцитах.

Заключение. Механизм недостаточного ответа на АСК обусловлен не только метаболическим состоянием тромбоцитов в условиях острой ишемии, но и формированием узкого спектра взаимосвязей в системе тромбоцитарно-нейтрофильной ассоциации.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, ацетилсалициловая кислота, тромбоциты, нейтрофилы, НАДФ(Ф)-зависимые дегидрогеназы, респираторный взрыв.

Для цитирования: Савченко АА, Гринштейн ЮИ, Гринштейн ИЮ, Гвоздев ИИ, Петрова ММ. Зависимость метаболизма тромбоцитов от хемилюминесцентной активности нейтрофилов при остром коронарном синдроме. *Сибирское медицинское обозрение.* 2017;(5): 59-66. DOI: 10.20333/2500136-2017-5-59-66.

DEPENDENCE OF THROMBOCYTES METABOLISM FROM THE CHEMILUMINESCENT ACTIVITY OF NEUTROPHILES IN PATIENTS WITH DIFFERENT SENSITIVITY TO ACETYLSALICYLIC ACID IN ACUTE CORONARY SYNDROME

A. A. Savchenko^{1,2}, Yu. I. Grinshtein¹, I. Yu. Grinshtein¹, I. I. Gvozdev², M. M. Petrova¹

¹Professor V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

²Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of medical problems of the North, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

The aim of the research. To study the peculiarities of the relationship between the parameters of hemostasis and the functional activity of neutrophils in patients with different sensitivity to acetylsalicylic acid (ASA) in acute coronary syndrome (ACS).

Material and methods. Patients were examined in the first 24 hours from the development of ACS. All patients before the start of treatment and revascularization were examined for resistance to ASA and divided into groups of sensitive (AC) and resistant to ASA (AR). Assessment of resistance / sensitivity to ASA was carried out *in vitro* by sequential incubation of platelet-rich plasma with ASA. The control group is formed from 50 healthy volunteers. The activity of dehydrogenases in platelets was studied by bioluminescent method. The state of respiratory explosion of neutrophils was investigated by the chemiluminescent method

Results. Metabolism of platelets in AC patients with ACS is characterized by inhibition of initial reactions of the tricarboxylic acid cycle and a decrease in NADP-dependent substrate metabolism between amino acid exchange reactions and the lemon cycle. In AP patients, the substrate flow through the Krebs cycle is more pronounced, but with the inhibition of the malate dehydrogenase reaction. At AC patients, minimal changes in the chemiluminescence kinetics are detected, which are determined by the accelerated synthesis of primary active oxygen species (ROS) with antigenic induction and slowing down the synthesis of secondary ROS. In AR patients with ACS, the state of respiratory explosion is determined by a decrease in the rate of synthesis of primary ROS, a slowdown in the synthesis of secondary ROS and a decrease in the activation index of neutrophils. In AC patients, the levels of synthesis of primary and secondary ROS depend on the intensity of energy and antioxidant processes, as well as substrate flows to the pentose phosphate cycle and glycolysis. In AC patients with ACS, the intensity of respiratory explosion of neutrophils co-directs only in the activity of energy processes in platelets.

The conclusion. The mechanism of an inadequate response to ASA is caused not only by the metabolic state of thrombocytes in the conditions of acute ischemia, but also by the formation of a narrow spectrum of interrelations in the system of platelet-neutrophil association.

Key words: acute coronary syndrome, acetylsalicylic acid, platelets, neutrophils, NAD (F) -dependent dehydrogenases, respiratory burst.

Citation: Savchenko AA, Grinshtein YuI, Grinshtein IYu, Gvozdev II, Petrova MM. Dependence of thrombocytes metabolism from the chemiluminescent activity of neutrophils in patients with different sensitivity to acetylsalicylic acid in acute coronary syndrome. *Siberian Medical Review*. 2017; (5): 59-66. DOI: 10.20333/2500136-2017-5-59-66.

Введение

Несмотря на развитие новых технологий диагностики 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 [1]. Изменения в гемостазе и активация воспалительных процессов тесно ассоциированы между собой, вследствие чего тромбоцитарно-лейкоцитарное взаимодействие становится ведущим в патогенезе ОКС. Функциональная активность нейтрофилов во многом зависят от интенсивности респираторного взрыва, которая определяется уровнем хемилюминесценции клеток [2, 3, 4, 5]. Функциональная активность тромбоцитов значительно зависит от состояния их метаболических процессов [6]. При этом взаимодействие тромбоцитов и нейтрофильных гранулоцитов реализуется различными механизмами: контактным путем (формирование агрегатов) и гуморальным (сигнальные коммуникации при участии различных биологически активных веществ).

Назначенная антиагрегантная терапия при ОКС предотвращает возможность активного тромбообразования, но зачастую имеет место недостаточный ответ на дезагреганты. Повышенная резистентность к ацетилсалициловой кислоте (АСК) наиболее часто наблюдается у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента

ST, что объясняет высокий риск развития ишемических осложнений у пациентов ОКС по сравнению со стабильной ишемической болезнью сердца [7].

В связи с этим, целью исследования явилось изучение особенностей взаимосвязи между показателями гемостаза и функциональной активности нейтрофилов у больных с разной чувствительностью к ацетилсалициловой кислоте (АСК) при остром коронарном синдроме (ОКС).

Материал и методы

В исследование включено 53 пациентов в первые 24 часа от развития ОКС (средний возраст $61,1 \pm 1,1$ лет) из них 25 мужчин и 28 женщин. Критерии включения в исследование: ОКС у пациентов обоего пола в возрасте от 35 до 75 лет в первые 24 часа поступления в стационар от начала заболевания, не принимавших до госпитализации антиагреганты и антикоагулянты, подписавшие 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 [8]. 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

пациентам была проведена реперфузионная терапия в виде чрескожного коронарного вмешательства или тромболитической терапии. В дальнейшем пациенты 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, 23 женщины).

Все пациенты были обследованы на резистентность к АСК до начала лечения и реваскуляризации. В связи с чем были разделены на группы чувствительных (АЧ) и резистентных (АР) 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 [9].

Исследование активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в тромбоцитах проводили с помощью биолюминесцентного метода [10]. Метаболизм клеток оценивали по активности следующих ферментов: глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (Г3ФДГ), малик-фермента (НАДФМДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции лактатдегидрогеназы (ЛДГ и НАДН-ЛДГ), НАД- и НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы (МДГ и НАДН-МДГ), НАДФ- и НАДФН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДФГДГ и НАДФН-ГДГ), НАД- и НАДН-зависимой глутаматдегидрогеназы (НАДГДГ и НАДН-ГДГ), НАД- и НАДФ-зависимых изоцитратдегидрогеназ (НАДИЦДГ и НАДФИЦДГ, соответственно) и глутатионредуктазы (ГР). Исследование проводили на ферментативном препарате NAD(P): FMNоксидоредуктаза люцифераза из *Photobacterium leiognathi* (получен в ФГБНУ «НИИ биофизики», Красноярск). Активность оксидоредуктаз выражали в ферментативных единицах (Е) на 1 мг белка (1 Е=1 мкмоль/мин). Содержание белка определяли по методу Брэдфорда.

Нейтрофилы выделяли из цельной гепаринизированной крови центрифугированием в двойном градиенте плотности фиколл-урографина: $\rho=1,077$ г/см³ – для отделения лимфоцитов; $\rho=1,119$ г/см³ – для выделения нейтрофилов. Состояние респираторного взрыва нейтрофильных гранулоцитов исследовали с помощью хемилюминесцентного анализа [3]. В качестве индикаторов хемилюминесценции использовали люминол и люцигенин. Оценка спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции осуществлялась в течение 90 минут на 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе “CL3606” (Россия). Определяли следующие

характеристики: время выхода на максимум (Tmax), максимальное значение интенсивности (Imax), а также площадь под кривой (S) хемилюминесценции. Усиление хемилюминесценции, индуцированной зимозаном, оценивали отношением площади индуцированной хемилюминесценции (Синд.) к площади спонтанной (Сспонт.) и определяли как индекс активации (Синд./Сспонт.).

Данные представлены в виде медиан и перцентилей Me [25;75]. Две независимые группы по количественному признаку оценивались по Mann-Whitney U test. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. Статистический анализ проводился с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc., 2004).

Результаты и обсуждение

При исследовании активности НАДФ-зависимых дегидрогеназ в тромбоцитах у больных ОКС в зависимости от чувствительности к АСК обнаружено, что активность Г6ФДГ в сравнении с контрольными значениями снижена в тромбоцитах как у АЧ пациентов, так и у АР (табл. 1). Однако у АР пациентов активность данного фермента понижена более выражено, чем у АЧ больных ОКС. Обратная зависимость наблюдается при определении активности НАДФГДГ. Активность фермента у больных ОКС снижена относительно контрольного диапазона, но у АЧ пациентов понижение активности НАДФГДГ более выражено, чем у АР больных. Независимо от чувствительности к АСК у больных ОКС в тромбоцитах снижена активность ГР. Только у АЧ пациентов с ОКС в тромбоцитах снижена активность НАДФН-ГДГ, как относительно контрольного диапазона, так и значений, выявленных у АР больных. При исследовании активности НАД-зависимых дегидрогеназ в тромбоцитах установлено, что независимо от чувствительности к АСК у больных ОКС снижены уровни активности Г3ФДГ, ЛДГ, МДГ, НАДН-МДГ и НАДН-ГДГ, а также повышена активность НАДН-ЛДГ (табл. 2). Только в тромбоцитах АЧ пациентов с АСК снижена активность НАДИЦДГ, как относительно контрольного уровня, так и значений, выявленных у АР больных ОКС.

При исследовании люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофильных гранулоцитов обнаружено снижение площади под кривой спонтанной хемилюминесценции у АР пациентов относительно показателей, выявленных у АЧ пациентов при ОКС (табл. 3). Также у АР пациентов снижена площадь под кривой зимозан-индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции как относительно контрольного диапазона, так и значений, выявленных у АЧ пациентов. Особенности люцигенин-зависимой хемилюминесценции у АЧ пациентов является сокращение времени выхода на максимум индуцированной хемилюминесценции. Исследование люминол-зависимой хемилюминесценции

позволило обнаружить, что независимо от чувствительности к АСК у пациентов ОКС увеличивается время выхода на максимум спонтанной и зимозан-индуцированной хемилюминесценции относительно контрольных значений (табл. 4). У АР по сравнению с АЧ пациентами и контролем снижен индекс активации люминол-зависимой хемилюминесценции.

жительно взаимосвязана с площадью под кривой индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($r=0,52$, $p=0,032$), активность ГЗФДГ также положительно коррелирует с величиной индекса активации люцигенин-зависимой хемилюминесценции ($r=0,63$, $p=0,011$).

Таблица 1

Активность НАДФ-зависимых дегидрогеназ тромбоцитов у чувствительных и резистентных к АСК пациентов ОКС (Me, (C₂₅ - C₇₅))

| Показатели | Контроль n=50 1 | Чувствительные к АСК пациенты n=34 2 | Резистентные к АСК пациенты n=19 3 |
|------------|---------------------------|--|---|
| Г6ФДГ | 58,32 (14,37 - 114,03) | 13,12 (3,21 - 20,38) $p_1=0,016$ | 0,44 (0,02 - 1,96) $p_1<0,001$ $p_2=0,017$ |
| НАДФМДГ | 2,49 (0,12 - 6,35) | 4,31 (0,06 - 11,22) | 1,08 (0,10 - 3,37) |
| НАДФГДГ | 1,21 (0,22 - 2,61) | 0,07 (0,01 - 0,29) $p_1=0,027$ | 0,45 (0,27 - 0,76) $p_1=0,040$ $p_2=0,048$ |
| НАДФИЦДГ | 36,36 (13,68 - 95,66) | 30,52 (0,86 - 98,17) | 16,48 (3,41 - 55,28) |
| ГР | 3,90 (1,34 - 10,07) | 14,87 (1,81 - 21,90) $p_1=0,037$ | 15,53 (1,99 - 26,40) $p_1=0,034$ |
| НАДФН-ГДГ | 62,53 (29,72 - 79,86) | 1,17 (0,01 - 2,61) $p_1<0,001$ | 55,18 (9,98 - 104,31) $p_2<0,001$ |

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

С помощью корреляционного анализа исследованы особенности взаимосвязи между активностью НАДФ-зависимых дегидрогеназ тромбоцитов и показателями респираторного взрыва нейтрофилов. Обнаружено, что у лиц контрольной группы активность Г6ФДГ отрицательно коррелирует с величиной индекса активации люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($r=-0,39$, $p=0,017$).

Кроме того, у лиц контрольной группы активность НАДФИЦДГ положительно взаимосвязана с максимумом интенсивности спонтанной люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($r=0,37$, $p=0,025$), тогда как активность ГР - отрицательно коррелирует с максимумом интенсивности зимозан-индуцированной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r=-0,32$, $p=0,045$). У АЧ больных ОКС активность Г6ФДГ поло-

Таблица 2

Активность НАД-зависимых дегидрогеназ тромбоцитов у чувствительных и резистентных к АСК пациентов ОКС (Me, (C₂₅ - C₇₅))

| Показатели | Контроль n=50 | Чувствительные к АСК пациенты n=34 | Резистентные к АСК пациенты n=19 |
|------------|-------------------------------|--|---|
| ГЗФДГ | 45,93 (30,53 - 115,86) | 14,80 (6,92 - 25,87) $p_1=0,005$ | 16,27 (8,45 - 28,11) $p_1=0,012$ |
| ЛДГ | 2354,59 (956,66 - 3276,58) | 532,84 (17,70 - 1129,03) $p_1=0,031$ | 171,84 (29,68 - 720,57) $p_1=0,005$ |
| МДГ | 862,92 (333,18 - 2097,39) | 26,14 (3,16 - 93,33) $p_1=0,035$ | 199,48 (11,55 - 520,50) $p_1=0,030$ |
| НАДГДГ | 642,77 (43,48 - 1184,95) | 464,44 (16,60 - 804,75) | 229,48 (151,63 - 373,42) |
| НАДИЦДГ | 12,15 (0,85 - 30,92) | 1,66 (0,01 - 7,52) $p_1=0,029$ | 7,67 (0,23 - 41,79) $p_2=0,046$ |
| НАДН-ЛДГ | 0,10 (0,01 - 7,56) | 106,46 (29,86 - 207,32) $p_1<0,001$ | 50,68 (40,84 - 115,89) $p_1<0,001$ |
| НАДН-МДГ | 317,29 (112,12 - 537,16) | 113,41 (30,95 - 270,07) $p_1=0,035$ | 50,69 (42,75 - 141,34) $p_1=0,045$ |
| НАДН-ГДГ | 88,65 (40,90 - 205,55) | 27,21 (7,67 - 35,47) $p_1=0,019$ | 33,47 (12,36 - 55,10) $p_1=0,038$ |

Примечание: то же, что и для табл. 1.

У пациентов данной группы, активность МДГ взаимосвязана с максимумом интенсивности люминол-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($r=0,50$, $p=0,046$), а активность ГР - с индексом активации люминол-зависимой хемилюминесценции ($r=0,56$, $p=0,012$). У АР больных ОКС активность НАДН-ЛДГ положительно коррелирует с максимумом интенсивности спонтанной люминол-зависимой хемилюминесценции ($r=0,60$, $p=0,011$) и площадью под кривой индуцированной хемилюминесценции нейтрофилов ($r=0,73$, $p<0,001$). Также у лиц данной группы обнаружены положительные корреляционные связи активности ГЗФДГ тромбоцитов с максимумом интенсивности зимозан-индуцированной

люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов ($r=0,63$, $p=0,022$) и активности МДГ с индексом активации люминол-зависимой хемилюминесценции ($r=0,58$, $p=0,039$).

Таблица 3

Люцигенин-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов у чувствительных и резистентных к АСК пациентов ОКС
(Me , (C_{25} - C_{75}))

| Показатели | Контроль n=50 1 | Чувствительные к АСК пациенты n=34 2 | Резистентные к АСК пациенты n=19 3 |
|---|-----------------------------|--|---|
| Спонтанная хемилюминесценция | | | |
| Tmax, сек. | 2246,5 (1538,0 - 3418,2) | 1902,5 (1563,5 - 3248,0) | 2821,8 (2113,0 - 4223,5) |
| I _{max} , о.е. × 10 ³ | 7,38 (2,58 - 15,61) | 11,98 (7,00 - 20,00) | 10,70 (5,48 - 14,70) |
| S _y , о.е. 'сек. ' 10 ⁶ | 4,28 (0,44 - 24,78) | 6,25 (1,15 - 20,34) | 3,52 (1,01 - 15,77) p ₂ =0,045 |
| Зимозан-индуцированная хемилюминесценция | | | |
| Tmax, сек. | 1830,9 (1489,0 - 2439,1) | 1535,5 (1262,5 - 1755,5) p ₁ =0,005 | 3084,0 (2887,0 - 3724,1) p ₂ =0,020 |
| I _{max} , о.е. × 10 ³ | 14,03 (7,61 - 28,49) | 17,45 (5,12 - 34,21) | 17,41 (14,95 - 20,31) |
| S _y , о.е. 'сек. ' 10 ⁶ | 10,77 (7,14 - 43,31) | 7,11 (2,70 - 15,68) | 4,37 (0,81 - 12,58) p ₁ =0,044; p ₂ =0,037 |
| Синд./Спонт. | 1,80 (1,17 - 3,19) | 1,16 (0,84 - 2,41) | 1,35 (1,41 - 4,02) |

Примечание: то же, что и для табл. 1.

Исследуемые оксидоредуктазы занимают ключевые позиции на основных метаболических путях клетки [11, 12]. Снижение активности Г6ФДГ в тромбоцитах больных ОКС в независимости от чувствительности к АСК определяет недостаточность синтетических процессов в клетках.

Необходимо подчеркнуть, что у АР пациентов интенсивность начальных реакций пентозофосфатного цикла снижается более выражено, чем у АЧ больных. Г6ФДГ также является основным конкурентом гликолиза за субстрат [11, 13]. У больных ОКС наблюдается значительное повышение активности анаэробной реакции ЛДГ, которая характеризует интенсивность терминальных реакций анаэробного гликолиза [11]. Причем высокая интенсивность терминальных реакций анаэробного гликолиза выявляется на фоне снижения активности

ГЗФДГ у больных ОКС, которая характеризует отток субстратов с реакций липидного катаболизма на окислительно-восстановительные реакции гликолиза.

Таблица 4

Люминол-зависимая хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов у чувствительных и резистентных к АСК пациентов ОКС
(Me , (C_{25} - C_{75}))

| Показатели | Контроль n=50 1 | Чувствительные к АСК пациенты n=34 2 | Резистентные к АСК пациенты n=19 3 |
|---|---------------------------|--|--|
| Спонтанная хемилюминесценция | | | |
| Tmax, сек. | 634,0 (506,5 - 1332,5) | 1913,0 (1092,0 - 2594,0) p ₁ =0,049 | 1957,0 (1595,0 - 2137,0) p ₁ =0,014 |
| I _{max} , о.е. × 10 ³ | 45,21 (12,60 - 61,59) | 31,73 (17,85 - 56,16) | 52,04 (35,39 - 68,58) |
| S _y , о.е. 'сек. ' 10 ⁶ | 3,21 (1,43 - 8,51) | 5,23 (3,28 - 70,70) | 5,46 (4,02 - 14,98) |
| Зимозан-индуцированная хемилюминесценция | | | |
| Tmax, сек. | 664,0 (580,0 - 1285,5) | 1091,0 (987,0 - 1819,0) p ₁ =0,041 | 1559,0 (1374,0 - 1692,0) p ₁ =0,041 |
| I _{max} , о.е. × 10 ³ | 64,69 (23,01 - 118,70) | 81,12 (31,53 - 118,15) | 61,95 (30,43 - 109,96) |
| S _y , о.е. 'сек. ' 10 ⁶ | 6,74 (1,23 - 23,50) | 8,52 (5,71 - 170,80) | 5,52 (4,42 - 34,61) |
| Синд./Спонт. | 2,17 (1,61 - 3,63) | 2,19 (1,45 - 2,78) | 1,36 (1,19 - 1,84) p _{1,2} =0,040 |

Примечание: то же, что и для табл. 1.

У АЧ больных ОКС снижена активность НАДИЦДГ – ключевого фермента лимонного цикла, лимитирующего субстратный поток [10]. При этом активность МДГ (второй НАД-зависимой дегидрогеназы цикла Кребса) в тромбоцитах больных ОКС также снижена, что позволяет заключить об ингибировании субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот. У АЧ пациентов данное ингибирование более выражено, чем у АР. Недостаточность интенсивности лимонного цикла может определяться низкой активностью аэробной реакции ЛДГ. Кроме того, у больных ОКС наблюдается снижение активности НАДФГДГ – вспомогательной НАДФ-зависимой дегидрогеназной реакции, которая осуществляет перенос интермедиатов аминокислотного обмена на реакции цикла трикарбоновых кислот [14]. У АЧ больных ОКС данная метаболическая реакция снижена более выра-

жено, чем у АР пациентов. Кроме того, в тромбоцитах у больных ОКС также снижен и уровень субстратного оттока с реакций цикла трикарбоновых кислот на реакции аминокислотного обмена. Причем, если интенсивность НАД-зависимого оттока (через НАДН-ГДГ) понижена при ОКС независимо от чувствительности, то уровень НАДФ-зависимого оттока (через НАДФН-ГДГ) снижен только у АЧ пациентов. Недостаточность кислород-зависимого дыхания тромбоцитов у больных ОКС также определяется ингибированием НАДН-зависимой реакции малатдегидрогеназы, которая является ключевой в системе малат-аспаратного шунта митохондрий, определяющего уровень водородного градиента [15].

Активность респираторного взрыва в нейтрофилах определяется уровнями синтеза первичных и вторичных АФК [2, 4, 5]. У АЧ больных ОКС выявляются минимальные отличия кинетики люцигенин-зависимой хемилюминесценции нейтрофилов, которые определяются только снижением времени выхода на максимум индуцированной хемилюминесценции. Данный показатель характеризует скорость развития респираторного взрыва от момента регуляторного или антигенного воздействия на клетку до максимальной активации ферментов, синтезирующих АФК. У АР больных ОКС особенность синтеза первичных АФК нейтрофилами характеризуется снижением площади под кривой спонтанной и индуцированной люцигенин-зависимой хемилюминесценции. Подобное состояние хемилюминесцентной активности клеток отражает снижение активности НАДФН-оксидазы в синтезе супероксид-радикала. Особенность респираторного взрыва в нейтрофилах у АЧ больных ОКС определяется увеличением времени активации синтеза вторичных АФК. У АР пациентов особенность синтеза вторичных АФК в фагоцитирующих клетках определяется также определяется ускоренной активацией ферментов, но при снижении величины индекса активации, который характеризует уровень активации респираторного взрыва при антигенной стимуляции нейтрофилов.

При исследовании взаимосвязей между активностью ферментов тромбоцитов и показателями хемилюминесцентной активности нейтрофилов установлено, что у здоровых людей обнаружены только отрицательные корреляционные связи, тогда как у больных ОКС независимо от чувствительности к АСК – только положительно. Данное изменение знака корреляционных связей характеризует формирование патогенетической сонаправленности изменений метаболизма тромбоцитов и интенсивности респираторного взрыва нейтрофилов при ОКС. У больных ОКС показатели респираторного взрыва нейтрофилов взаимосвязаны с уровнями активности ферментов тромбоцитов, участвующих в метаболических процессах энергетического и пластического типа. Интенсивность зимозан-индуцированного синте-

за вторичных АФК у больных данной группы положительно взаимосвязано с активностью МДГ и ГР тромбоцитов. Можно предположить, что функциональная активация нейтрофилов крови у АЧ больных ОКС сопровождается повышением интенсивности субстратного потока по циклу трикарбоновых кислот и активацией перекисных процессов в тромбоцитах.

У АЧ больных ОКС показателя дыхательного взрыва нейтрофилов взаимосвязаны с тромбоцитарными ферментами только энергетического профиля. Спонтанный и индуцированный синтез вторичных АФК в нейтрофилах крови положительно взаимосвязан с активностью МДГ и анаэробной реакции ЛДГ. Следовательно, у АЧ больных ОКС интенсивность респираторного взрыва нейтрофилов сонаправленно меняется активности энергетических процессов в тромбоцитах.

Заключение

У больных ОКС в зависимости от чувствительности к АСК выявляются характерные особенности состояния внутриклеточного метаболизма тромбоцитов и интенсивности респираторного взрыва нейтрофилов. Метаболизм тромбоцитов у АЧ больных ОКС характеризуется ингибированием начальных реакций цикла трикарбоновых кислот и снижением НАДФ-зависимого субстратного обмена между реакциями аминокислотного обмена и лимонным циклом. У АР больных более выражен субстратный поток по циклу Кребса, но при ингибировании малатдегидрогеназной реакции. Независимо от чувствительности к АСК в тромбоцитах больных ОКС выявляется ингибирование пентозофосфатного цикла и переноса продуктов липидного катаболизма на реакции гликолиза, но при увеличении активности терминальных реакций анаэробного гликолиза. У АЧ пациентов выявляются минимальные изменения кинетики респираторного взрыва, которые определяются ускоренной активацией синтеза первичных АФК в клетках при антигенной индукции, а также замедлением синтеза вторичных АФК. У АР больных ОКС состояние респираторного взрыва определяется понижением скорости синтеза первичных АФК, замедлением синтеза вторичных АФК и снижением индекса активации нейтрофилов по люминол-зависимой хемилюминесцентной реакцией. При резистентности к АСК отмечается понижение функциональной активности нейтрофилов, что представляет интерес при изучении межклеточных взаимоотношений формирования тромба. С помощью корреляционного анализа установлено, что при ОКС формируется сонаправленность изменений активности НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ в тромбоцитах и показателей респираторного взрыва нейтрофилов. При этом у АЧ пациентов уровни синтеза первичных и вторичных АФК зависят от интенсивности энергетических и антиоксидантных процессов, а также субстратными потоками на пентозофосфатный цикл и гликолиз. У АЧ

больных ОКС интенсивность респираторного взрыва нейтрофилов сонаправленно меняется только активности энергетических процессов в тромбоцитах. Таким образом, механизм недостаточного ответа на АСК обусловлен не только метаболическим состоянием тромбоцитов в условиях острой ишемии, но и формированием узкого спектра взаимосвязей в системе тромбоцитарно-нейтрофильной ассоциации.

Литература

1. Bae MH, Lee JH, Yang DH, Park HS, Cho Y, Chae SC. White blood cell, hemoglobin and platelet distribution width as short-term prognostic markers in patients with acute myocardial infarction. *Journal of Korean Medical Science*. 2014;29(4):519-26. DOI: 10.3346/jkms.2014.29.4.519.
2. Савченко АА, Здзитовецкий ДЭ, Борисов АГ, Лузан НА. Хемилюминесцентная активность нейтрофильных гранулоцитов и уровни концентрации цитокинов у больных распространенным гнойным перитонитом. *Цитокины и воспаление*. 2013;12(1-2):115-9.
3. Шкапова ЕА, Куртасова ЛМ, Савченко АА. Показатели люцигенин - и люминолзависимой хемилюминесценции нейтрофилов крови у больных раком почки. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2010;149(2):201-3.
4. El-Benna J, Hurtado-Nedelec M, Marzaioli V, Marie JC, Gougerot-Pocidal MA, Dang PM. Priming of the neutrophil respiratory burst: role in host defense and inflammation. *Immunological Reviews*. 2016;273(1):180-93. DOI: 10.1111/imr.12447.
5. Parenti A, Indorato B, Paccosi S. Minocycline affects human neutrophil respiratory burst and transendothelial migration. *Inflammation Research*. 2017;66(2):107-109. DOI: 10.1007/s00011-016-0999-x.
6. Moschos MM, Chatziralli IP, Stamatakis G, Papakonstantinou VD, Tsatsos M, Demopoulos CA. In Vitro Effects of Anti-Glaucomatous Eye Drops on Platelet-Activating Factor and its Metabolism. *Seminars in Ophthalmology*. 2017;32(2):198-203. DOI: 10.3109/08820538.2015.1053622.
7. Гринштейн ЮИ, Косинова АА, Гринштейн ИЮ. Возможные причины и механизмы развития вторичной резистентности к ацетилсалициловой кислоте. *Российские медицинские вести*. 2013;2:4-13.
8. 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. DOI:10.1093/eurheartj/ehr236.
9. Гринштейн ЮИ, Филоненко ИВ, Савченко АА, Савченко ЕА, Гринштейн ИИ. Способ диагностики резистентности к ацетилсалициловой кислоте. Патент

№ 2413953 РФ, МПК G01N 33/86 (2006.01). Опубл. 10.03.2009, Бюл. № 7: 8 с.

10. Савченко ЕА, Савченко АА, Герасимчук АИ, Грищенко ДА. Оценка метаболического статуса тромбоцитов в норме и при ишемической болезни сердца. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2006;5:33-6.
11. Куртасова ЛМ, Савченко АА, Манчук ВТ. Метаболические аспекты иммунореабилитации детей с атопическими заболеваниями. Новосибирск: Наука, 2006; 222 с.
12. Engel PC. Glutamate dehydrogenases: the why and how of coenzyme specificity. *Neurochemical Research*. 2014;39(3):426-32. DOI: 10.1007/s11064-013-1089-x.
13. Rostami-Far Z, Ghadiri K, Rostami-Far M, Shaveisi-Zadeh F, Amiri A, Rahimian Zarif B. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (G6PD) as a risk factor of male neonatal sepsis. *Journal of Medicine and Life*. 2016;9(1):34-38.
14. Sharkey MA, Oliveira TF, Engel PC, Khan AR. Structure of NADP(+)-dependent glutamate dehydrogenase from *Escherichia coli*-reflections on the basis of coenzyme specificity in the family of glutamate dehydrogenases. *Federation of European Biochemical Societies Journal*. 2013;280(18):4681-92. DOI: 10.1111/febs.12439.
15. Wang C, Chen H, Zhang J, Hong Y, Ding X, Ying W. Malate-aspartate shuttle mediates the intracellular ATP levels, antioxidation capacity and survival of differentiated PC12 cells. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. 2014;6(2):109-14.

References

1. Bae MH, Lee JH, Yang DH, Park HS, Cho Y, Chae SC. White blood cell, hemoglobin and platelet distribution width as short-term prognostic markers in patients with acute myocardial infarction. *Journal of Korean Medical Science*. 2014;29(4):519-26. DOI: 10.3346/jkms.2014.29.4.519.
2. Savchenko AA, Zdzitoveckij Dje, Borisov AG, Luzan NA. Chemiluminescent activity of neutrophils and concentration levels of cytokines in patients with widespread purulent peritonitis. *Cytokines and inflammation*. 2013;12(1-2):115-9. (In Russian)
3. Shkapova EA, Kurtasova LM, Savchenko AA. Lucigenin- and luminol-dependent chemiluminescence of blood neutrophils in patients with renal cancer. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2010;149(2):201-3. (In Russian)
4. El-Benna J, Hurtado-Nedelec M, Marzaioli V, Marie JC, Gougerot-Pocidal MA, Dang PM. Priming of the neutrophil respiratory burst: role in host defense and inflammation. *Immunological Reviews*. 2016;273(1):180-93. DOI: 10.1111/imr.12447.
5. Parenti A, Indorato B, Paccosi S. Minocycline affects human neutrophil respiratory burst and transendothelial migration. *Inflammation Research*. 2017;66(2):107-109. DOI: 10.1007/s00011-016-0999-x.

6. Moschos MM, Chatziralli IP, Stamatakis G, Papakonstantinou VD, Tsatsos M, Demopoulos CA. In Vitro Effects of Anti-Glaucomatous Eye Drop on Platelet-Activating Factor and its Metabolism. *Seminars in Ophthalmology*. 2017;32(2):198-203. DOI: 10.3109/08820538.2015.1053622.

7. Grinshtein YuI, Kosinova AA, Grinshtein IYu. Possible causes and mechanisms of development of secondary resistance to acetylsalicylic acid. *Russian medical news*. 2013;2:4-13. (In Russian)

8. 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. DOI:10.1093/eurheartj/ehr236

9. Grinshtein YuI, Filonenko IV, Savchenko AA, Savchenko EA, Grinshtein IYu. 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. (In Russian)

10. Savchenko EA, Savchenko AA, Gerasimchuk AI, Grishchenko DA. Evaluation of the metabolic status of platelets in normal and ischemic heart disease. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2006;5:33-6. (In Russian)

11. Kurtasova LM, Savchenko AA, Manchuk VT. Metabolic aspects immunorehabilitation of children with atopic diseases. Novosibirsk: Nauka, 2006; 222 p. (In Russian)

12. Engel PC. Glutamate dehydrogenases: the why and how of coenzyme specificity. *Neurochemical Research*. 2014;39(3):426-32. DOI: 10.1007/s11064-013-1089-x.

13. Rostami-Far Z, Ghadiri K, Rostami-Far M, Shaveisi-Zadeh F, Amiri A, Rahimian Zarif B. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (G6PD) as a risk factor of male neonatal sepsis. *Journal of Medicine and Life*. 2016;9(1):34-38.

14. Sharkey MA, Oliveira TE, Engel PC, Khan AR. Structure of NADP(+)-dependent glutamate dehydrogenase from *Escherichia coli*--reflections on the basis of coenzyme specificity in the family of glutamate dehydrogenases.

Federation of European Biochemical Societies Journal. 2013;280(18):4681-92. DOI: 10.1111/febs.12439.

15. Wang C, Chen H, Zhang J, Hong Y, Ding X, Ying W. Malate-aspartate shuttle mediates the intracellular ATP levels, antioxidation capacity and survival of differentiated PC12 cells. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. 2014;6(2):109-14.

Сведения об авторах

Савченко Андрей Анатольевич, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; Федеральное исследовательское учреждение «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г; тел.: +7(905)9713715; e-mail: aasavchenko@yandex.ru

Гринштейн Юрий Исаевич, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(902)9904664; e-mail: grinshtein.yi@mail.ru

Гринштейн Игорь Юрьевич, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(913)5321820; e-mail: grinst@rambler.ru

Гвоздев Иван Игоревич, Федеральное исследовательское учреждение «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук» обособленное подразделение «Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера»; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г; тел.: +7(963)2558482; e-mail: leshman-mult@mail.ru

Петрова Марина Михайловна, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(902)9230211; e-mail: stk99@yandex.ru

Information about the authors

Savchenko Andrei A., Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of medical problems of the North; Address: 3G, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(905)9713715; e-mail: aasavchenko@yandex.ru

Grinshtein Yuri I., Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(902)9904664; e-mail: grinshtein.yi@mail.ru

Grinshtein Igor Yu., Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(913)5321820; e-mail: grinst@rambler.ru

Gvozdev Ivan I., Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of medical problems of the North; Address: 3G, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(963)2558482; e-mail: leshman-mult@mail.ru

Petrova Marina M., Professor V. F. Voyno-Yasensky Krasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(902)9230211; e-mail: stk99@yandex.ru

Поступила 01.03.2017 г.

Принята к печати 13.09.2017 г.

© ШИМОХИНА Н. Ю., ПЕТРОВА М. М., САВЧЕНКО А. А.

УДК 616.132.2-008.6-06:616.895.4-072.85

DOI: 10.20333/2500136-2017-5-66-72.

ПОКАЗАТЕЛИ ТРЕДМИЛ-ТЕСТА У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ И ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНЫМИ РАССТРОЙСТВАМИ

Н. Ю. Шимохина¹, М. М. Петрова¹, А. А. Савченко^{1,2}

¹Красноярский Государственный Медицинский Университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

²Научно-исследовательский институт медицинских проблем Севера, лаборатория молекулярно-клеточной физиологии и патологии, г. Красноярск 660022, Российская Федерация