

УДК 616.151.5:616-099

Е.А.Рущкина, А.В.Говорин, Ю.А.Витковский, А.В.Солпов, Н.А.Соколова, Е.В.Бойко, В.П.Калашников

АГРЕГАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ И АКТИВНОСТЬ ФАКТОРА ФОН ВИЛЛЕБРАНДА У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ ОТРАВЛЕНИЕМ УКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ

Читинская государственная медицинская академия (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

Резюме. У 43 пациентов в возрасте от 18 до 32 лет с отравлением уксусной кислотой изучена агрегационная способность тромбоцитов и выраженность эндотелиальной дисфункции в разные сроки с момента отравления. Средняя доза принятой концентрированной 70% уксусной кислоты составила 32,5+5,4 мл. Установлено, что у больных с острым отравлением уксусной кислотой возникают существенные изменения агрегационной функции тромбоцитов, выраженность которых зависит от степени тяжести отравления. Показано, что агрегационная функция кровяных пластинок снижается, независимо от их количества у больных с отравлением уксусной кислотой. У таких больных проявляется эндотелиальная дисфункция, выраженность которой зависит от степени тяжести отравления. Наиболее низкая агрегационная активность тромбоцитов проявляется в первые сутки с момента отравления у пациентов со средней и тяжелой степенью отравления. Агрегационные свойства кровяных пластинок резко снижались у пациентов с отравлением тяжелой степени, что сопровождалось значительной тромбоцитопенией, повышением активности фактора фон Виллебранда и количества десквамированных эндотелиоцитов.

Острые отравления, вызванные приемом уксусной кислоты, составляют около 70% среди всех отравлений веществами прижигающего действия и занимают одно из первых мест среди неотложных состояний в токсикологической практике. Высокая частота встречаемости данного вида отравлений обусловлена широкой доступностью и распространенностью яда в быту. Грозным и смертельным осложнением при отравлении уксусной кислотой является развитие экзотоксического шока, летальность при котором свыше 60% [Лужников Е.А., 1999].

Ведущими патогенетическими факторами в развитии острой недостаточности кровообращения отмечают отягощающее сочетание местного ожога пищеварительного тракта и внутрисосудистого гемолиза, результатом чего является массивная плазмопотеря, абсолютная гиповолемия, т.е. развитие

синдрома "малого выброса" [Сергеева Е.П. и соавт., 2001]. Известно, что уксусная кислота вызывает метаболический ацидоз, который, в свою очередь, приводит к внутрисосудистому гемолизу. При этом быстро проявляются нарушения сосудистотромбоцитарного гемостаза, свертывания крови и фибринолиза, ведущие к ДВС-синдрому, нарушению микроциркуляции и формированию полиорганной недостаточности. Многие ключевые механизмы гемостазиологических реакций при отравлении уксусной кислотой остаются до конца неизученными.

ЦЕЛЬ настоящего исследования - изучить агрегационную способность тромбоцитов и выраженность эндотелиальной дисфункции у больных с острым отравлением уксусной кислотой в разные сроки с момента отравления.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Обследовано 43 пациента с отравлением уксусной кислотой: 25 человек со средней и 18 человек с тяжелой степенью отравления (у 4-х из них наступил летальный исход). Возраст пострадавших составил от 18 до 32 лет. Средняя доза принятой концентрированной 70% уксусной кислоты составила 32,5+5,4 мл. Контрольную группу составили здоровые лица, сопоставимые по полу и возрасту, в количестве 15 человек. Всем пациентам проводилось исследование агрегационной способности тромбоцитов, оценивалась активность фактора Виллебранда, производился подсчет тромбоцитов в периферической крови.

Исследование агрегационной способности тромбоцитов проводилось по следующей методике. Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) получали из крови, взятой с использованием в качестве антикоагулянта 3,8% раствора цитрата натрия в соотношении кровь: антикоагулянт 9:1. Кровь центрифугировали при 200 г в течение 7 мин при комнатной температуре. Из пробирки осторожно отбирали 2,5 мл супернатанта (верхнего слоя). Бедную тромбоцитами плазму (БТП) получали повторным центрифугированием остатков крови при 2000 г в течение 15 минут. Агрегацию тромбоцитов исследовали с помощью стандартного турбидометрического метода, с использованием двухканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов "Биола" (модель LA230). В качестве индуктора агрегации тромбоцитов использовали раствор АДФ в концентрации 10 мкг/мл и 2,5 мкг/мл. Оценивали степень и скорость спонтанной и АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов по данным кривой среднего размера агрегатов и кривой светопропускания. Исследование проводили в 1-е, 5-

Таблица 1.

Изменение агрегационной функции тромбоцитов в 1 - е сутки с момента отравления уксусной кислотой ($M \pm m$).

| Кривая среднего размера агрегатов | | | | | | |
|-----------------------------------|--|---|---|--|---|--|
| | Спонтанная агрегация | | АДФ №1 | | АДФ №2 | |
| | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. |
| Контроль | 1,1 ± 0,1 | 0,5 ± 0,1 | 8,9 ± 0,5 | 27,9 ± 1,5 | 9,4 ± 0,6 | 28,2 ± 2,6 |
| Средняя степень | 1,0 ± 0,1 $p_2 < 0,05$ | 0,5 ± 0,1 | 6,8 ± 0,6 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$ | 18,4 ± 1,5 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ | 6,5 ± 0,5 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ | 17,1 ± 1,9 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ |
| Тяжелая степень | 0,7 ± 0,1 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$ | 0,4 ± 0,1 | 2,4 ± 0,3 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ | 3,5 ± 0,7 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ | 2,5 ± 0,5 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ | 3,9 ± 1,2 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ |
| Кривая светопропускания | | | | | | |
| | Спонтанная агрегация | | АДФ №1 | | АДФ №2 | |
| | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. |
| Контроль | 0,3 ± 0,2 | 1,2 ± 0,3 | 51,4 ± 4,5 | 81,8 ± 4,2 | 39,7 ± 8,7 | 54,8 ± 6,5 |
| Средняя степень | 0,2 ± 0,1 | 1,4 ± 0,2 $p_2 < 0,01$ | 47,4 ± 3,0 $p_2 < 0,01$ | 73,9 ± 4,9 $p_2 < 0,001$ | 28,5 ± 3,7 | 57,3 ± 5,6 $p_2 < 0,001$ |
| Тяжелая степень | 0,2 ± 0,2 | 2,3 ± 0,3 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$ | 34,0 ± 4,0 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$ | 36,9 ± 7,2 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ | 25,5 ± 5,7 | 26,1 ± 4,5 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ |

p_1 - достоверность различий по отношению к контролю;

p_2 - достоверность различий между клиническими группами с различной степенью тяжести отравления (средняя и тяжелая степень отравления);

е и 10-е сутки с момента отравления уксусной кислотой.

Активность фактора фон Виллебранда определяли методом ристоцетин-кофакторной активности фактора фон Виллебранда способом флюк-

туации светового потока при помощи лазерного анализатора агрегации тромбоцитов "Биола" (модель LA230). Подсчет тромбоцитов производили с помощью автоматического счетчика форменных элементов крови.

Таблица 2.

Изменение агрегационной функции тромбоцитов на 5 - е сутки с момента отравления уксусной кислотой.

| Кривая среднего размера агрегатов | | | | | | |
|-----------------------------------|----------------------|---------------------------|--|---|--|---|
| | Спонтанная агрегация | | АДФ №1 | | АДФ №2 | |
| | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. |
| Контроль | 1,1 ± 0,1 | 0,5 ± 0,1 | 8,9 ± 0,5 | 27,9 ± 1,5 | 9,4 ± 0,6 | 28,2 ± 2,6 |
| Средняя степень | 1,1 ± 0,1 | 0,5 ± 0,1 | 6,0 ± 0,4 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ | 15,8 ± 1,2 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ | 5,9 ± 0,4 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ | 16,4 ± 1,2 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ |
| Тяжелая степень | 0,9 ± 0,1 | 0,4 ± 0,1 | 3,8 ± 0,6 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ | 9,9 ± 1,8 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ | 3,7 ± 0,6 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ | 10,1 ± 1,9 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$ |
| Кривая светопропускания | | | | | | |
| | Спонтанная агрегация | | АДФ №1 | | АДФ №2 | |
| | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. |
| Контроль | 0,3 ± 0,2 | 1,2 ± 0,3 | 51,4 ± 4,5 | 81,8 ± 4,2 | 39,7 ± 8,7 | 54,8 ± 6,5 |
| Средняя степень | 0,3 ± 0,2 | 2,4 ± 0,4 $p_1 < 0,05$ | 52,8 ± 1,1 | 80,0 ± 2,2 | 34,9 ± 3,2 | 65,0 ± 4,6 |
| Тяжелая степень | 0,5 ± 0,4 | 2,56 ± 1,0 | 47,1 ± 7,8 | 70,3 ± 6,2 | 43,6 ± 6,7 | 53,2 ± 7,6 |

p_1 - достоверность различий по отношению к контролю;

p_2 - достоверность различий между клиническими группами с различной степенью тяжести отравления (средняя и тяжелая степень отравления);

Изменение агрегационной функции тромбоцитов на 10 - е сутки с момента отравления уксусной кислотой.

| Кривая среднего размера агрегатов | | | | | | |
|-----------------------------------|---|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | Спонтанная агрегация | | АДФ №1 | | АДФ №2 | |
| | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. |
| Контроль | 1,1 ± 0,1 | 0,5 ± 0,1 | 8,9 ± 0,5 | 27,9 ± 1,5 | 9,4 ± 0,6 | 28,2 ± 2,6 |
| Средняя степень | 1,3 ± 0,2 $p_2 < 0,05$ | 0,4 ± 0,04 | 7,6 ± 0,6 | 23,7 ± 1,6 | 7,5 ± 0,9 | 22,2 ± 2,2 |
| Тяжелая степень | 0,8 ± 0,1 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ | 0,3 ± 0,03 $p_1 < 0,05$ | 6,9 ± 0,8 $p_1 < 0,05$ | 17,5 ± 2,4 $p_1 < 0,001$ | 7,0 ± 0,8 $p_1 < 0,05$ | 16,9 ± 2,4 $p_1 < 0,01$ |
| Кривая светопропускания | | | | | | |
| | Спонтанная агрегация | | АДФ №1 | | АДФ №2 | |
| | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. | Макс. знач. | Макс. накл. |
| Контроль | 0,3 ± 0,2 | 1,2 ± 0,3 | 51,4 ± 4,5 | 81,8 ± 4,2 | 39,7 ± 8,7 | 54,8 ± 6,5 |
| Средняя степень | 0,04 ± 0,04 | 1,8 ± 0,4 | 61,5 ± 4,2 | 85,2 ± 9,9 | 48,1 ± 7,0 | 55,6 ± 4,8 |
| Тяжелая степень | 0,02 ± 0,02 | 1,7 ± 0,1 | 56,6 ± 2,8 | 77,1 ± 5,3 | 43,5 ± 4,5 | 64,7 ± 4,1 |

p_1 - достоверность различий по отношению к контролю;

p_2 - достоверность различий между клиническими группами с различной степенью тяжести отравления (средняя и тяжелая степень отравления);

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.

Показатели спонтанной и АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (степень и скорость агрегации) в первые сутки с момента отравления представлены в таблице 1. По данным кривой среднего размера агрегатов установлено, что максимальное значение степени агрегации кровяных пластинок без добавления индукторов в группе пациентов с отравлением тяжелой степени достоверно снижено, как по отношению к контрольной группе ($p < 0,001$), так и по отношению к группе пациентов с поражением средней степени тяжести ($p < 0,05$).

При добавлении АДФ в больших и малых дозах (10 мкг/мл и 2,5 мкг/мл) выявлено, что в группах больных со средней и тяжелой степенью отравления снижается агрегация кровяных пластинок в сравнении с контрольной группой ($p < 0,001$). При этом отмечено уменьшение степени и скорости агрегации в группе пациентов с отравлением тяжелой степени по отношению к средней степени тяжести ($p < 0,001$).

По данным кривой светопропускания при отравлении тяжелой степени отмечалось снижение АДФ-индуцированной агрегации по сравнению с контрольной группой, а также с группой пациентов с отравлением средней степени ($p < 0,01$ и $p < 0,001$), за исключением показателя степени агрегации при добавлении АДФ низкой концентрации. Однако скорость спонтанной агрегации тромбоцитов при тяжелом отравлении уксусной кис-

лотой увеличивалась по сравнению, как с контрольной группой, так и с группой пациентов с отравлением средней степени ($p < 0,01$). По остальным показателям достоверных различий не найдено.

При анализе показателей агрегации на 5-е сутки с момента отравления (табл. 2) были получены следующие результаты. Исследование АДФ-индуцированной агрегации по данным кривой среднего размера агрегатов у пациентов с отравлением средней и тяжелой степени выявило снижение показателей агрегации по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). При этом также отмечено уменьшение степени и скорости агрегации в группе пациентов с отравлением тяжелой степени по отношению к пациентам со средней степенью отравления ($p < 0,01$).

По данным кривой светопропускания скорость спонтанной агрегации тромбоцитов у пациентов с отравлением средней степени увеличивалась по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Остальные показатели не отличались от контроля.

При анализе показателей агрегации в 10-е сутки с момента отравления по данным кривой среднего размера агрегатов выявлено снижение показателей спонтанной агрегации и АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с тяжелой степенью отравления по сравнению с контрольной группой (табл. 3). У этих больных уменьшался показатель степени агрегации по отношению к группе пациентов со средней степенью от-

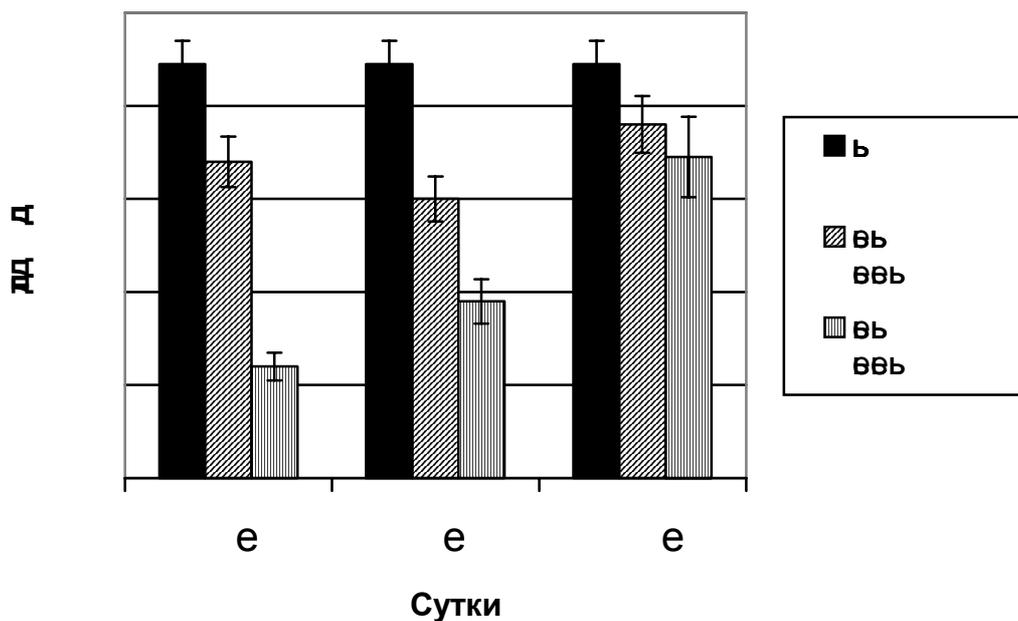


Рис. 1. Изменение степени агрегации тромбоцитов у пациентов с острым отравлением уксусной кислотой в разные сроки с момента отравления при действии АДФ в концентрации 10 мкг/мл (по данным кривой среднего размера агрегатов).

равления ($p < 0,05$).

При сравнении динамики показателей агрегации внутри групп с различной степенью тяжести отравления на 1-е, 5-е и 10-е сутки, выявлено снижение агрегационных свойств тромбоцитов под влиянием АДФ в концентрации 10 мкг/мл у больных в обеих клинических группах в первые сутки с момента отравления (рис. 1). Гипоагрегация кровяных пластинок среди исследуемых групп была наиболее выражена в группе пациентов с отравлением тяжелой степени. Снижение показателей агрегации тромбоцитов отмечалось практически по всем исследуемым параметрам.

При отравлении средней степени тяжести признаки гипоагрегации тромбоцитов сохранялись на 5-е сутки, а к 10-м суткам показатели агрегационной функции нормализовались. Однако при тяжелой степени отравления, несмотря на улучшение показателей агрегации в течение исследуемого периода, признаки гипоагрегации тромбоцитов сохранялись и на 10-е сутки наблюдения. Следует отметить, что эти изменения регистрировались только на кривой среднего размера агрегатов.

Установлено, что у больных с отравлением тяжелой степени на 1-е и 5-е сутки снижалось число кровяных пластинок ($130 \pm 12,5 \times 10^9/\text{л}$ и $190,6 \pm 20,3 \times 10^9/\text{л}$ соответственно), а к 10-м суткам их количество восстанавливалось до нормального уровня. В группе пациентов с отравлением средней степени тяжести количество тромбоцитов сохранялось в

пределах нормы на протяжении всего периода наблюдения.

У больных с отравлением тяжелой степени активность фактора фон Виллебранда увеличивалась практически в два раза ($191,8 \pm 21,1\%$). Высокая активность фактора фон Виллебранда в этой группе сохранялась на протяжении всего периода наблюдения. Среди пациентов с отравлением средней степени тяжести определялась некая тенденция к повышению активности фактора фон Виллебранда ($141,9 \pm 11,2\%$), однако данный показатель за пределы верхней границы нормы не выходил.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об уменьшении агрегационной функции тромбоцитов у пациентов с отравлением уксусной кислотой. Мы считаем, что эти изменения являются вторичными и связаны с повреждением тканей, раздражением сосудистой стенки продуктами распада тканей и провоспалительными цитокинами, в результате чего происходит активация всех звеньев системы гемостаза. Вторичной гипоагрегации кровяных пластинок предшествуют их первичная гиперагрегация, вызванная АДФ, адреналином, тромбином, ФАТ, повышенной секрецией фактора фон Виллебранда, торможением образования простаглицина эндотелиальными клетками. Тромбоцитопения на фоне гипоагрегации тромбоцитов является неотъемлемым признаком развившейся токсической коагулопатии потребления у больных. Данные настоящего ис-

следования позволяют утверждать, что уровень снижения агрегационной функции тромбоцитов и повышение активности фактора фон Виллебранда могут объективно отражать степень тяжести отравления уксусной кислотой.

ВЫВОДЫ: 1. У больных с острым отравлением уксусной кислотой выявлены существенные изменения агрегационной функции тромбоцитов, выраженность которых зависит от степени тяжести отравления.

2. Агрегационная функция кровяных пластинок снижается не зависимо от их количества у больных с отравлением уксусной кислотой.

3. У больных с отравлением тяжелой степени повышается активность фактора фон Виллебранда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голиков П.П. и др. Оксид азота и перекисное окисление липидов как факторы эндогенной интоксикации при неотложных состояниях. Патологическая физиология и экспериментальная медицина, 2000,2:6 - 8.
2. Лужников Е.А. Клиническая токсикология. Москва. Медицина, 1999.
3. Мазуркевич Г.С., Багненко С.Ф. Шок. Теория, клиника, организация противошоковой помощи. Санкт - Петербург, 2004.
4. Панченко Е.П., Шалаев С.В., Грацианский Н.А. и др. Нестабильная стенокардия: функциональная активность тромбоцитов, свободный цитоплазматический кальций, вазо- и тромбоцитактивные простагоиды. Кардиология 1987;10:27 - 32.
5. Пасечник И.Н., Азизов Ю.М., Никушкин Е.В., Баринов В.Г., Ларионов А.С. Роль окислительного стресса как компонента критических состояний в генезе нарушений гемостаза. Анестезиология и реаниматология, 2001,3:41 - 43.
6. Сергеева Е.П. и соавт. Экстракорпоральное очищение крови в лечении тяжелых отравлений уксусной кислотой. Клиническая медицина, 2001;9:53 - 57.
7. Симоненков А.П., Федоров В.Д. О генезе нарушений микроциркуляции при тканевой гипоксии, шоке и диссеминированном внутрисосудистом свертывании крови. Анестезиология и реаниматология, 1998, 3:32 - 35.
8. Zahavi M., Zahavi J., Schafer R. et al. Thromb. Haemost. Abnormal typical pattern of platelet function and thromboxane generation in unstable angina. Thromb. Haemost 1989;62:840 - 845.
9. Riba R., Oberprieler N.G., Roberts W., Naseem K.M. von Willebrand factor activates endothelial nitric oxide synthase in blood platelets by a glycoprotein Ib-dependent mechanism. Thromb. Haemost 2005;4:2636 - 2644.
10. Ruggeri Z.M. Structure and function of von Willebrand factor. Thrombos Haemost 1999; 82:576 - 584.