

## АГРЕГАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ МНОГОУЗЛОВЫМ ЗОБОМ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ИНДУКТОРОВ АГРЕГАЦИИ

Ральченко И.В., Чепис М.В., Ральченко Е.С., Книга М.Ю., Русакова О.А., Герберт И.Я.

*ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, e-mail: ralchenko@tyumsma.ru*

В исследование включено 40 пациентов, находящихся на диспансерном наблюдении. Все больные имели нарушение функции щитовидной железы – многоузловой зоб, как результат приспособления к длительной йодной недостаточности или продолжительного приема анти тиреоидных соединений. По данным исследования установлено, что максимальная агрегация тромбоцитов, скорость достижения максимальной величины тромбоцитов наблюдается у коллаген-индуцированной агрегации. Известно, что генетические типы коллагена различны по составу цепей и локализации. Множественность взаимодействий коллаген-тромбоцит – обязательное условие реакции высвобождения и ее следствия – агрегации. Что касается АДФ (аденозиндифосфат) – индуцированной агрегации, то показатели зависят от концентрации индуктора агрегации. При концентрации АДФ 2,5 мкг/мл наблюдается максимальный размер агрегатов, увеличивается скорость достижения максимального размера агрегатов, а время достижения максимальной агрегации не зависит от концентрации АДФ. Агрегация обратима при малых концентрациях АДФ и необратима – при высоких, высвобождающих АДФ из клеток. Нарушения функции щитовидной железы (многоузловой зоб) приводят к характерным изменениям в агрегации, выявление и дифференциальная диагностика которых возможна на основании агрегационных кривых. Для ответа на диагностические вопросы достаточно применение АДФ и коллагена, как индукторов агрегации.

Ключевые слова: тромбоциты, щитовидная железа, коллаген, АДФ-индуцированная агрегация.

## PLATELET AGGREGATION IN PATIENTS WITH MULTINODULAR GOITER USING DIFFERENT INDUCERS OF AGGREGATION

Ralchenko I.V., Chepis M.V., Ralchenko E.S., Kniga M.Yu., Rusakova O.A., Gerbert I.Ya.

*Tyumen State Medical University, Health Ministry of Russia, Tyumen, e-mail: ralchenko@tyumsma.ru*

The study included 40 patients on dispensary observation. All patients had thyroid dysfunction - multinodular goiter, as a result of adaptation to prolonged iodine deficiency or prolonged intake of anti-thyroid compounds. According to the research, it was found that the maximum platelet aggregation, the rate of reaching the maximum platelet count is observed in collagen-induced aggregation. It is known that the genetic types of collagen are different in the composition of chains and localization. The multiplicity of collagen-platelet interactions is a compulsory condition for the release reaction and its consequences - aggregation. As for ADP-induced aggregation, the indicator depends on the concentration of the aggregation inducer. With an ADP concentration of 2.5 µg/ml, the maximum aggregate size is observed, the rate of reaching the maximum aggregate size is increased, but the time to achieve maximum aggregation doesn't depend on ADP concentration. Aggregation is reversible at low concentrations of ADP and is irreversible at high concentrations, releasing ADP from cells. Dysfunctions of the thyroid gland (multinodular goiter) lead to characteristic changes in aggregation, detection and differential diagnosis of which is possible on the basis of aggregation curves. To respond to diagnostic questions, it is sufficient to use ADP and collagen as inducers of aggregation.

Keywords: platelet, thyroid gland, collagen, ADP-induced aggregation.

Агрегометрия открыла новую эпоху в диагностике нарушения деятельности тромбоцитов. Преимуществом метода является то, что живые тромбоциты исследуются в условиях, приближающихся к физиологическим: при постоянной температуре, при постоянной скорости смешивания. Агрегация тромбоцитов ведет к образованию агрегатов с расстоянием между клетками в долях микрона. Интенсивность агрегации определяется

многими индукторами [7], а также патологическими сдвигами. Наиболее изучены следующие индукторы агрегации: кальций, АДФ, адреналин, коллаген, серотонин, тромбин, арахидонат, фибриноген, фибронектин, тромбоспондин, фактор Виллебранда [4]. Исследования по оценке состояния тромбоцитарной функции у больных с нарушениями функции щитовидной железы являются противоречивыми, поэтому мы определили цель нашего исследования.

**Цель** исследования – установить особенности изменения агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с многоузловым зобом с использованием разных индукторов агрегации. В исследование было включено 40 пациентов, находящихся на диспансерном наблюдении.

**Материалы и методы исследования.** Все больные имели нарушение функции щитовидной железы – многоузловой зоб, как результат приспособления к длительной йодной недостаточности или продолжительного приема антитиреоидных соединений. Диагноз устанавливался на основании жалоб, данных анамнеза заболевания, функциональных и клинико-лабораторных исследований [3, 6]. Агрегационные функции тромбоцитов спонтанную и индуцированную агрегацию изучали с помощью лазерного агрегометра «Биола». В качестве индукторов агрегации использовали растворы фирмы-производителя «Технология – стандарт» (Россия), приготовленные согласно фирменной инструкции: АДФ в концентрациях 2,5 мкг/мл, 1,25 мкг/мл и коллаген 20 мг/мл (лиофильно высушенная фракция из богатой коллагеном ткани человека). Обогащенную тромбоцитами плазму для исследования получали центрифугированием 2000 g в течение 15 минут, бедную тромбоцитами плазму получали центрифугированием 4000 g в течение 20 минут. Агрегацию оценивали по динамике изменения светопропускания плазмы – классический метод, предложенный ранее, и по динамике изменения размеров образующихся агрегатов. Расшифровывая агрегатограммы, устанавливали: значение спонтанной агрегации, значения максимальной агрегации /МА/, максимальную скорость агрегации (максимальный тангенс угла наклона кривой агрегатограммы к оси абсцисс /tg  $\alpha$ /). Максимальный размер тромбоцитарных агрегатов /МРА/ оценивали по результатам их динамического измерения (на агрегометре) [3, 9]. Цифровые результаты исследований обрабатывали методом вариационной статистики для малых рядов наблюдений с вычислением средней арифметической (M), ошибки средней арифметической (m). Для определения достоверности отличий вычисляли доверительный коэффициент Стьюдента (t) и величину вероятности (p). Различия оценивали как достоверные при значениях степени вероятности (p<0,05).

**Результаты исследования и их обсуждение.** Данные, характеризующие агрегацию тромбоцитов у больных, представлены в таблица.

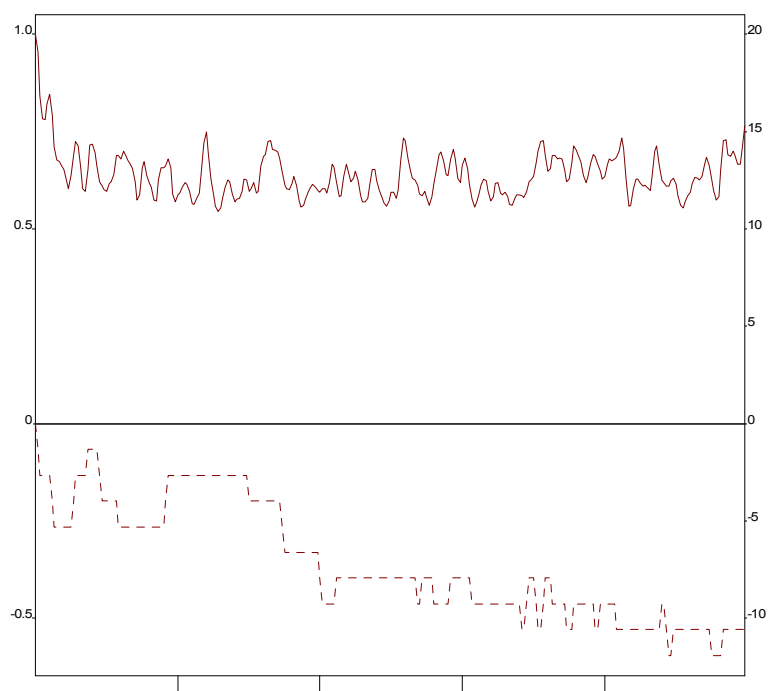
Агрегационная активность тромбоцитов у пациентов многоузловым зобом при  
использовании разных индукторов агрегации

Показатели	Коллаген	АДФ 1,25	АДФ 2,5	СА
1. Агрегационная активность тромбоцитов %	33,35±10,57*	22,37±9,17	19,15±8,04	11,50±2,86
2. Скорость достижения максимальной величины тромбоцитов tga, с МРАi	1,08±0,22*	1,14±0,34*	1,87±0,34*	1,38±0,36
3. Максимальный размер агрегатов МРАi	1,27±0,11*	1,56±0,20*	1,92±0,19*	1,36±0,15
4. Скорость достижения максимальной агрегации tga, сМРАi	26,17±4,15	31,49±14,01*	11,12±3,29*	15,66±5,07
5. Время достижения максимальной агрегации с	181,75±69,03	253,29±19,09	250,14±22,40	218,94±22,74

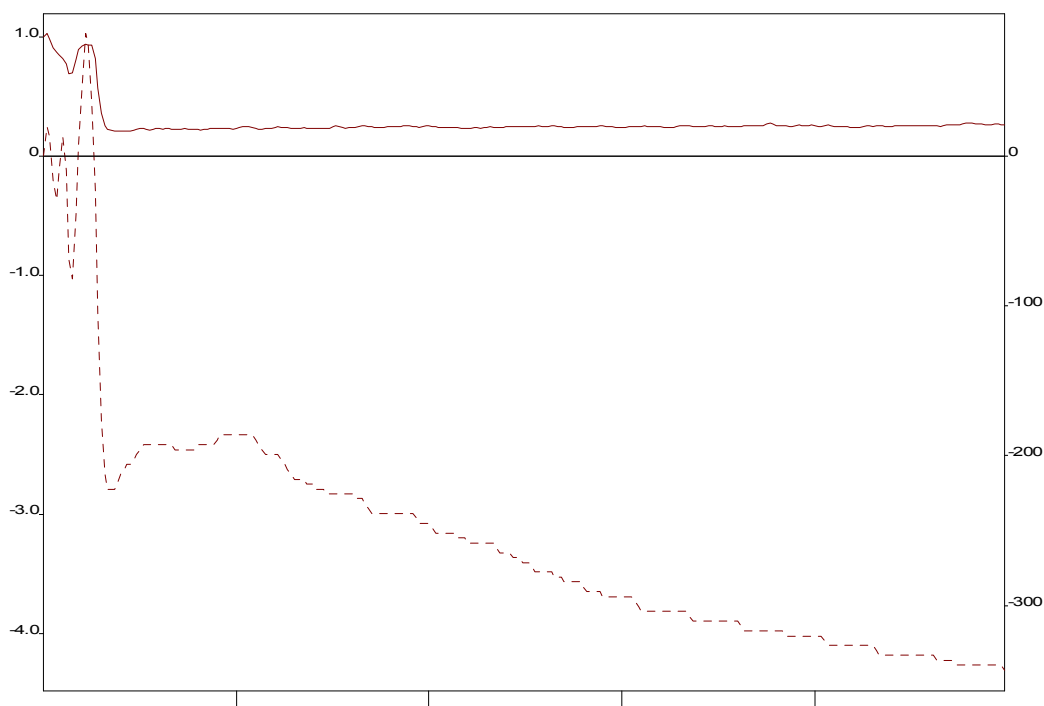
Примечание: СА – спонтанная агрегация, АДФ – АГ – АДФ-индуцированная агрегация, tga – скорость агрегации, МРАi – максимальный размер агрегатов, tga, сМРАi, у.е. – скорость достижения максимального значения агрегатов, знак \* – достоверные отличия от исходного состояния.

По данным исследования установлено, что максимальная агрегация тромбоцитов, скорость достижения максимальной величины тромбоцитов наблюдается у коллаген индуцированной агрегации. Известно, что генетические типы коллагена различны по составу цепей и локализации. Для агрегации необходимо образование его мультимеров [1, 2]. Во всех формах коллагена более активны  $\alpha$ -цепи [3]. Множественность взаимодействий коллаген-тромбоцит – обязательное условие реакции высвобождения и ее следствия – агрегации [9, 15]: денатурированный коллаген, не инициирует агрегацию [11]. Что касается АДФ-индуцированной агрегации, то показатели зависят от концентрации индуктора агрегации. При концентрации АДФ 2,5 мкг/мл наблюдается максимальный размер агрегатов, увеличивается скорость достижения максимального размера агрегатов, а время достижения максимальной агрегации не зависит от концентрации АДФ. АДФ – важнейший физиологический  $Ca^{2+}$ -зависимый индуктор агрегации, реализующий эффект фибриногена, альбумина и агрегосонов А и В. Агрегация обратима при малых концентрациях АДФ и

необратима – при высоких, высвобождающих АДФ из клеток [5]. Кинетика превращения дисковидных тромбоцитов в сферические не зависит от концентрации АДФ и не коррелирует и с восстановлением их формы [12]. Агрегацию инициирует связывание АДФ с тромбоцитом, вызывающее деполяризацию плазматической мембраны [8], которая определяет потерю дисковидной формы и появление псевдоподий. Сопутствующее сокращение системы микротрубочек ведет к смещению гранул к центру клетки [12]. В этом не участвует внеклеточный  $Ca^{2+}$  [10]. Выявлены две компоненты кривой первичной АДФ-агрегации: медленная – при минимальных концентрациях АДФ, быстрая – при концентрации 0,4-0,8 мкМ [1, 10, 13]. Агрегация при сдвиге напряжения опосредуется АДФ: в присутствии креатинфосфат-креатинфосфокиназной системы, утилизирующей АДФ, вызванная сдвигом агрегация ослаблена [6, 11]. Влияние АДФ на агрегации тромбоцитов зависит от pH,  $t^\circ$ , концентрации гликоаминогликанов, двухвалентных ионов, особенно  $Ca^{2+}$  и Mn и др. [8, 12], от сезона, гормонального фона, физической нагрузки, мало зависит от пола, возраста [10]. Изменена АДФ-агрегация при патологии [8, 14]. Первой ответной реакцией является изменение формы тромбоцитов, их дискоидная форма переходит в сферическую, в то же время появляются псевдоподии. За изменением формы тромбоцитов наступает первая фаза агрегации, вызываемая агрегационным средством. После окончания первичной агрегации крутизна агрегационной кривой понижается, за этот период из тромбоцитов освобождаются биологически активные соединения, вызывающие новую агрегационную волну. На рис. 1-4 приведены примеры агрегационных кривых больных многоузловым зобом с использованием разных индукторов агрегации.



*Рис. 1. Спонтанная агрегация. Левая шкала – размер агрегатов в образце плазмы в относительных единицах. Правая шкала – светопропускание плазмы в %. Средний радиус: максимальный размер агрегатов 1,00, скорость достижения максимального значения агрегатов 0,45. Светопропускание: максимальное светопропускание 0,00, скорость достижения максимального значения светопропускания 13,8*



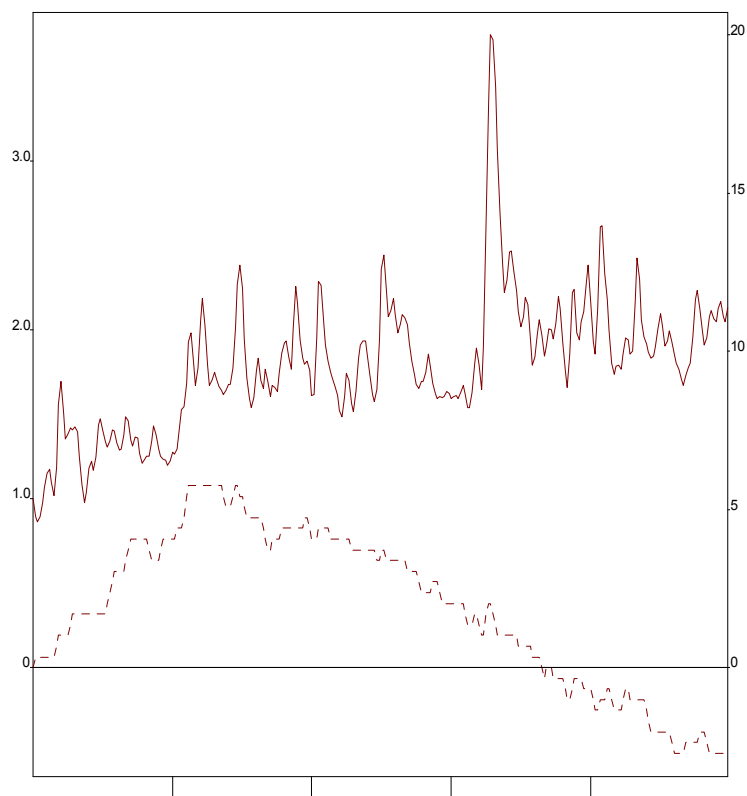
*Рис. 2. АДФ – индуцированная агрегация (АДФ – 1, 25 мкг/мл).*

*Левая шкала – размер агрегатов в образце плазмы в относительных единицах.*

*Правая шкала – светопропускание плазмы в %.*

*Средний радиус: максимальный размер агрегатов 1,02, скорость достижения максимального значения агрегатов 0,07.*

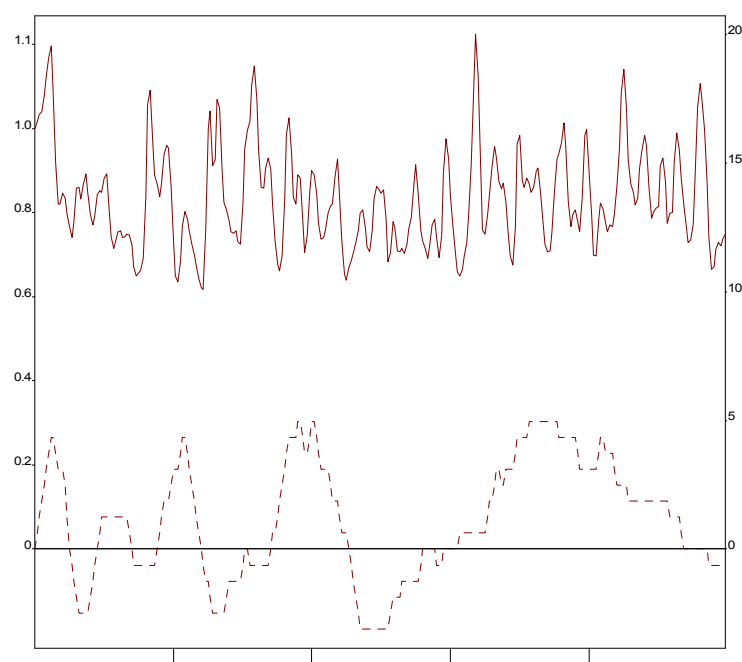
*Светопропускание: максимальное светопропускание 81,60, скорость достижения максимального значения светопропускания 100,00*



*Рис. 3. АДФ – индуцированная агрегация. (АДФ – 2,5 мкг/мл). Левая шкала – размер агрегатов в образце плазмы в относительных единицах.*

*Правая шкала – светопропускание плазмы в %. Средний радиус: максимальный размер агрегатов 3,74, скорость достижения максимального значения агрегатов 6,26.*

*Светопропускание: максимальное светопропускание 5,75, скорость достижения максимального значения светопропускания 8,80*



*Рис. 4. Коллаген – индуцированная агрегация. (Коллаген – 2,5 мкг/мл).*

*Левая шкала – размер агрегатов в образце плазмы в относительных единицах. Правая шкала – светопропускание плазмы в %. Средний радиус: максимальный размер агрегатов 1,22, скорость достижения максимального значения агрегатов 1,02. Светопропускание: максимальное светопропускание 4,95, скорость достижения максимального значения светопропускания 20,70*

### **Заключение**

Таким образом, нарушения функции щитовидной железы (многоузловой зоб) приводят к характерным изменениям в агрегации, выявление и дифференциальная диагностика которых возможна на основании агрегационных кривых. Для ответа на диагностические вопросы достаточно применение АДФ и коллагена, как индукторов агрегации.

### **Список литературы**

1. Баркаган З.С. Основы диагностики нарушений гемостаза / З.С. Баркаган, А.П. Момот. – М.: Ньюдиамед, 1999. – 217 с.
2. Бокарев И.Н. Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы лечения / И.Н. Бокарев. – М., 2000. – С. 47-52.
3. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д.М. Зубаиров. – Казань, 2000. – 367 с.
4. О роли щитовидной железы в регуляции гемостаза / А.Ш. Бышевский, С.Л. Галян, Г.А. Сулкарнаева, П.Я. Шаповалов. – М.: Медицинская книга, 2006. – 96 с.
5. Ральченко Е.С., Чепис М.В., Умутбаева М.К., Ральченко И.В. Функциональная активность тромбоцитов при дисфункции щитовидной железы // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 5(1). – С. 40-41.
6. Ральченко И.В., Чепис М.В., Ральченко Е.С., Галян С.Л. Состояние гемокоагуляционного и тромбоцитарного гемостаза при гипотиреозе // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 2-1. – С.96.
7. Самаль А.Б., Черенкевич С.Н., Хмара Н.Ф. рН среды как фактор регуляции функциональных свойств тромбоцитов // Гематология и трансфузиология. – 1989. – № 34(2). – С. 35-38.
8. Скипетров В.П. Коагуляционно-литическая система тканей и тромбгеморрагический синдром в хирургии / В.П. Скипетров, А.П. Власов, С.П. Голышенков. – Саранск: Красный Октябрь, 1999. – 230 с.

9. Соловьев В.Г. Роль тромбоцитов, эритроцитов и сосудистой стенки в регуляции тромбинемии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Челябинск, 1997. – 40 с.
10. Физиология системы гемостаза / В.П. Балуда, М.В. Балуда, И.И. Деянов, И.К. Тлепшуков. – М.: Медицина, 1995. – 243 с.
11. Чепис М.В., Ральченко Е.С., Ральченко И.В. Сравнительная характеристика коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов при дисфункции щитовидной железы // Университетская медицина Урала. – 2016. – Т.2. – № 2(5). – С.64-65.
12. Чепис М.В., Ральченко Е.С., Русакова О.А., Герберт И.Я., Григорьева Л.М., Ральченко И.В. Различия агрегационной активности тромбоцитов в зависимости от патологии щитовидной железы // Медицинская наука и образование Урала. – 2016. – № 2. – С.71-73.
13. Erem C. Coagulation and fibrinolysis in thyroid dysfunction // Endocrine. – 2009. – № 36 (1). – P. 110-118.
14. Franchini M., Montagnana M., Manzato F., Vescovi P.P. Thyroid dysfunction and hemostasis: an issue still unresolved // Semin. Thromb. Hemost. – 2009. – No. 35 (3). – P. 288-294.
15. Yango J., Alexopoulou O., Eeckhoudt S. et al. Evaluation of the respective influence of thyroid hormones and TSH on blood coagulation parameters after total thyroidectomy // Eur. J. Endocrinol. – 2011. – No. 164 (4). – P. 599-600.