

КОАГУЛОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

Огуркова О.Н., Сулова Т.Е., Баталов Р.Е.

ИССЛЕДОВАНИЕ СПОНТАННОЙ И СТИМУЛИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ТИПАМИ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, 634012, Томск, Россия

Исследование функции тромбоцитов широко используется для диагностики нарушений клеточного звена гемостаза. Изучение агрегационной активности тромбоцитов актуально для предотвращения тромбозных осложнений при фибрилляции предсердий и контроля эффективности и безопасности терапии. В настоящем исследовании был проведен сравнительный анализ спонтанной и стимулированной агрегации тромбоцитов в группах пациентов с двумя типами фибрилляции предсердий – пароксизмальная и персистирующая. Также было изучено влияние терапии β-адреноблокаторами на агрегационную активность тромбоцитов у пациентов с фибрилляцией предсердий. Агрегационную активность тромбоцитов исследовали с помощью метода Г. Борна в модификации З.А. Габбасова на двухканальном лазерном анализаторе 220 LA “НПФ Биола”. В качестве стимулирующих агрегацию агентов были использованы коллаген в концентрации 2 мг/мл и адреналин в диапазоне концентраций 2,5-10 мкг/мл. Установлено, что спонтанный агрегационный потенциал и коллаген-индуцированная агрегация тромбоцитов зависят от типа фибрилляции предсердий, а также от наличия или отсутствия в терапии β-адреноблокаторов. Ответ тромбоцитов на стимуляцию адреналином зависит, прежде всего, от типа фибрилляции предсердий и концентрации адреналина в реакционной среде. Наиболее существенные изменения отмечены в группе пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий, принимающих β-адреноблокаторы.

Ключевые слова: тромбоциты; агрегация; спонтанная; стимулированная; фибрилляция предсердий; адреналин.

Для цитирования: Огуркова О.Н., Сулова Т.Е., Баталов Р.Е. Исследование спонтанной и стимулированной агрегации тромбоцитов у пациентов с разными типами фибрилляции предсердий. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(1): 35-41. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-35-41>

Ogurkova O.N., Suslova T.E., Batalov R.E.

RESEARCH OF SPONTANEOUS AND STIMULATED AGGREGATION OF PLATELETS IN PATIENTS WITH DIFFERENT TYPES OF ATRIAL FIBRILLATION

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

Platelet function testing is widely used to diagnose disorders of the cellular link of hemostasis. The study of platelet aggregation activity is relevant for the prevention of thromboembolic complications in atrial fibrillation and monitoring the effectiveness and safety of therapy. In this study, a comparative analysis of spontaneous and stimulated platelet aggregation in groups of patients with two types of atrial fibrillation was performed — paroxysmal and persistent. The effect of β-adrenoblocker therapy on platelet aggregation activity in patients with atrial fibrillation was also studied. Platelet aggregation activity was studied using the method of G. Born in the modification of Z.A. Gabbasov on a two-channel laser analyzer “Biola”. Collagen at a concentration of 2 mg/ml and adrenaline in a concentration range of 2.5-10 μg/ml were used as aggregation-promoting agents. It has been established that spontaneous aggregation potential and collagen-induced platelet aggregation depend on the type of atrial fibrillation, as well as on the presence or absence of β-blockers in therapy. The response of platelets to stimulation with adrenaline depends, first of all, on the type of atrial fibrillation and the concentration of adrenaline in the reaction medium. The most significant changes were noted in the group of patients with a paroxysmal form atrial fibrillation, taking β-blockers in therapy.

Key words: platelets; aggregation; spontaneous; stimulated; atrial fibrillation; adrenalin.

For citation: Ogurkova O.N., Suslova T.E., Batalov R.E. Research of spontaneous and stimulated functional activity of platelets in patients with different types of atrial fibrillation. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66(1): 35-41 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2021-66-1-35-41>

For correspondence: *Ogurkova O.N.*, candidate of medical sciences, researcher of the department functional and laboratory diagnostics; e-mail: ogurkovaon@mail.ru

Information about authors:

Ogurkova O.N., <https://orcid.org/0000-0001-8397-0296>;

Suslova T.E., <https://orcid.org/0000-0001-9645-6720>;

Batalov R.E., <https://orcid.org/0000-0003-1415-3932>.

Conflict of interest. *The authors declare no conflict of interest.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 20.06.2020
Accepted 01.09.2020

Введение. Медико-социальная значимость фибрилляций предсердий объясняется ее неблагоприятным влиянием на прогноз жизни пациента, повышением риска развития тромбоэмболических осложнений, хронической сердечной недостаточности и снижением качества жизни пациентов [1]. С клинической точки зрения, с учетом течения и длительности аритмии выделяют несколько типов ФП. Пароксизмальная ФП, длительность которой может достигать 7 суток, характеризуется самопроизвольным прекращением, обычно в течение первых 48 часов. При пароксизмальной ФП, длящейся более 48 ч, вероятность спонтанного прекращения аритмии низкая, однако существенно возрастает риск системных тромбоэмболий, что требует рассмотрения возможности проведения антитромботической терапии [1,2]. Персистирующая ФП самостоятельно не прекращается и для ее устранения необходима медикаментозная или электрическая кардиоверсия [1].

При нарушении ритма сердца значимый вклад в патогенез тромбоэмболических осложнений (ТЭО) оказывают факторы, связанные с внутрисердечной гемодинамикой и ремоделированием камер сердца, активацией системы свертывания крови и агрегацией тромбоцитов [3]. Профилактика ТЭО является важной проблемой терапии ФП, однако, невзирая на непрерывный прогресс в подходах к стратификации риска ТЭО, не учитывается индивидуальное состояние гемостаза [4]. Анализ данных современной литературы, касающейся изменений системы гемостаза у пациентов, страдающих ФП и их вклад в риск ТЭО, показывает необходимость детального изучения всех звеньев гемостаза при фибрилляции предсердий [5,6].

В настоящее время показано, что тромбоциты являются метаболически активными клетками и играют важную роль в ряде физиологических и патологических процессов – в ангиогенезе, в реализации воспалительных и репаративных процессов. Дефект функций тромбоцитов

влечёт за собой повышенный риск кровотечения или напротив – тромбообразования [7,8]. Антитромботическая профилактика при фибрилляции предсердий является наиболее важной задачей для изучения, поскольку проблема ТЭО остается не решенной [9].

В связи с этим, исследование нарушений функций тромбоцитов при фибрилляции предсердий является востребованной и актуальной задачей и представляется актуальным для разработки персонализационного подхода к выбору антитромботической терапии в дальнейшем.

Цель – исследовать спонтанную и стимулированную коллагеном и адреналином агрегацию тромбоцитов для оценки функциональной активности клеток при разных типах фибрилляции предсердий.

Материал и методы. В исследование были включены 27 здоровых добровольцев и 30 пациентов с фибрилляцией предсердий (ФП): пароксизмальная форма и персистирующая формы, с ИБС, гипертонической болезнью I – III стадии, стенокардией напряжения I-III функционального класса, ХСН I-IIa стадии, атеросклерозом сонных артерий. Для верификации диагноза всем пациентам проводили комплексное клинико-инструментальное и лабораторное обследование. Пациентам была проведена операция: CARTO РЧА, изоляция легочных вен. Терапия, принимаемая пациентами на момент включения в исследование, соответствовала современным рекомендациям и включала в себя: антикоагулянты, бета-блокаторы (β-АБ), статины. Клиническая характеристика пациентов с фибрилляцией предсердий на момент включения в исследование представлена в табл.1. Протокол исследования был одобрен Локальным Этическим комитетом № 163 от 08.11.2017 г. Все пациенты дали свое письменное информированное согласие на включение в исследование.

Для получения богатой тромбоцитами плазмы использовали периферическую венозную кровь, забран-

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов с фибрилляцией предсердий

Показатели	Пароксизмальная форма ФП (n=16)	Персистирующая форма ФП (n=14)
Возраст, годы	59,44 ± 14,83	57,50 ± 9,28
Мужчины/женщины	7 / 9	9 / 5
Гипертоническая болезнь, стадия		
I	1	1
II	9	7
III	2	0
Функциональный класс СН (NYHA)		
I	6	7
II	9	6
III	1	1
CARTO РЧА изоляция ЛВ	9	6
CARTO РЧА эндокардиальный MAZE	1	6
Криобаллонная изоляция легочных вен	1	0
РЧА не было	5	2
β-адреноблокаторы	6	5
Антикоагулянты	16	14
Статины	1	2
Общий холестерин, ммоль/л	4,45 ± 0,38	5,23 ± 0,59
Триглицериды, ммоль/л	1,25 ± 0,15	1,2 ± 0,12
ЛПВП, ммоль/л	1,18 ± 0,09	1,25 ± 0,10
ЛПНП, ммоль/л	2,65 ± 0,32	3,01 ± 0,512
ЛПНП/ЛПВП	2,25 ± 0,23	2,41 ± 0,23

ную из локтевой вены утром, натошак в пластиковые пробирки, содержащие антикоагулянт (цитрат натрия 3,8%) в соотношении 1 часть антикоагулянта на 9 частей крови. Плазму, богатую тромбоцитами, получали с использованием центрифуги ОПн-3.02 при 1000 об/мин в течение 10 мин, бедную тромбоцитами плазму получали центрифугированием при 3000 об/мин до 15 минут. Агрегационную активность тромбоцитов исследовали с помощью метода Г.Борна в модификации З.А.Габбасова [10] на двухканальном лазерном анализаторе 220 LA «НПФ Биола» с компьютерной обработкой по программе AGGR. Метод основан на анализе флуктуаций светопропускания, вызванных случайным изменением числа частиц в оптическом канале. Относительная дисперсия таких флуктуаций пропорциональна среднему размеру агрегатов.

Приготовление рабочих растворов индукторов агрегации осуществляли с использованием диагностических наборов фирмы «Технология-стандарт» (Россия). Лиофилизированный коллаген разводили 6 мл дистиллированной воды для получения маточного раствора с концентрацией 20 мг/мл, конечная концентрация в реакционной смеси 2 мг/мл, лиофилизированный адреналин разводили 8 мл растворителя для получения маточного раствора с концентрацией 500 мкг/мл. Из маточного раствора адреналина получались следующие разведения: адреналин 10,0 мкг/мл (100 мкл маточного раствора + 4,9 мл физраствора NaCl), адреналин 5,0 мкг/мл (500 мкл раствора адреналина 10 мкг/мл + 500 мкл физраствора NaCl), адреналин 2,5 мкг/мл (500 мкл раствора адреналина 5,0 мкг/мл + 500 мкл физраствора NaCl). Конечная концентрация индуктора в реакционной смеси рассчитывалась исходя из того, что общий объем смеси составляет 400 мкл, в котором содержится 50 мкл индуктора. Запись кривых агрегации осуществлялась в течение 5 мин, добавление индуктора агрегации производилось через 10 с от начала записи кривой. Оценивали степень агрегации по кривой светопропускания – максимальное приращение светопропускания после добавления индуктора агрегации (СП), выражается в %. Степень агрегации по кривой среднего размера агрегатов-максимальное значение среднего размера агрегатов после добавления индуктора (CРА), выражается в условных единицах. Скорость агрегации-максимальный наклон кривой светопропускания (%/мин) и кривой среднего размера агрегатов (ед/мин). Показатели спонтанной агрегации регистрировали на 2-й минуте записи.

Достоверность различий средних величин определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа и их непараметрических анализов критерия Манна-Уит-

ни, Вилкоксона и непараметрического дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса. В работе рассчитывались медиана (межквартильный диапазон) и min и max значения. Критическое значение уровня значимости (p) принимали равным 0,05, что является достаточным для медико-биологических исследований. Для оценки корреляционных взаимоотношений между изучаемыми показателями применялся линейный корреляционный анализ с расчетом коэффициента линейной корреляции Пирсона (r) и Спирмена. Значимость корреляционной связи определяли с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Все обследованные пациенты были разделены на группы по типу фибрилляции предсердий – пароксизмальная и персистирующая, внутри групп было дополнительное деление на группы пациентов, принимающих β -адреноблокаторы (β -АБ) и не принимающих β -АБ. При изучении спонтанной агрегации тромбоцитов было обнаружено увеличение степени агрегации по кривой светопропускания в обеих группах пациентов с ФП, где пациенты не принимали β -АБ. Наиболее выраженное увеличение спонтанной агрегации отмечено в группе с персистирующей формой фибрилляции предсердий без β -АБ (табл.2).

Механизмы спонтанной активации тромбоцитов зависят от многочисленных факторов, Изменение состава плазмы, с повышением в крови уровня биологически активных веществ, метаболические нарушения приводит к повышенной способности тромбоцитов к формированию агрегатов. При проведении корреляционного анализа была получена положительная взаимосвязь между спонтанной степенью агрегации по кривой светопропускания и содержанием общего холестерина в сыворотке крови ($r=0,80, p=0,002$) и уровнем холестерина в липопротеинах низкой плотности ($r=0,80, p=0,002$). Важная роль принадлежит изменениям функционального состояния мембран тромбоцитов, изменениям в системе вторичных мессенджеров, в системе ц-АМФ и ц-ГМФ при метаболических нарушениях [11], увеличению в кровотоке количества старых тромбоцитов, склонных к разрушению и выбросу биологически активных веществ (АДФ, серотонина, адреналина). Значительное воздействие сил сдвига *in vivo* на эндотелий приводит к обнажению коллагена, что также может способствовать увеличению склонности тромбоцитов к спонтанной агрегации [12].

Показатели коллаген-индуцированной агрегации свидетельствуют о функциональном состоянии эндотелия и характеризуют адгезивную сенсibili- зированность тромбоцитов. Исследование коллаген-стимулированной агрегации тромбоцитов в на-

Таблица 2

Параметры спонтанной агрегации тромбоцитов у пациентов с фибрилляцией предсердий и здоровых добровольцев

Параметры	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, не принимающие β -АБ (n=10)	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, принимающие β -АБ (n=6)	Пациенты с персистирующей формой ФП, не принимающие β -АБ (n=9)	Пациенты с персистирующей формой ФП, принимающие β -АБ (n=5)	Здоровые добровольцы (n=27)
CРА, ед.	0,97 (0,88;1,15)	0,96 (0,94;1,04)	0,95 (0,92;1,37)	1,01 (0,85;1,36)	1,08 (0,98;1,17)
СП, %	1,07 * (0,76;1,29)	0,83 (0,75;1,43)	1,67 * (0,97;2,13)	0,74 (0,34;3,74)	0,80 (0,50;1,57)

Примечание. Здесь и в табл. 3-6 : Ме – медиана (межквартильный диапазон), min (25) и max (75) процентиля. *- $p<0,05$ при сравнении группы с ФП с группой здоровых добровольцев.

шем исследовании показало, что в группе пациентов с пароксизмальной формой ФП, принимающих β -адреноблокаторы средний размер агрегатов и скорость их образования имеют более низкие значения, сравнению с группой пациентов, не принимающих β -АБ, а так же с группой здоровых добровольцев. При сравнении с группой пациентов с персистирующей формой ФП, отмечена тенденция к снижению значений агрегации ($p=0,06$). В группе пациентов с персистирующей формой ФП, как принимающих, так и не принимающих β -АБ, значения максимального размера агрегатов, степени агрегации и скорости образования агрегатов не отличаются от значений в группе здоровых добровольцев. Данные представлены в табл. 3.

Как видно из полученных результатов, наличие β -адреноблокаторов в терапии приводит к снижению всех параметров коллаген-индуцированной агрегации у пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий. Терапия бета-адреноблокаторами применяется в качестве терапии первой линии при ФП, особенно при наличии повышенного тонуса адренергической системы и ишемии миокарда [13]. На своей поверхности тромбоциты экспрессируют α 2- и β 2-адренорецепторы [13, 14]. Адреналин является слабым индуктором агрегации тромбоцитов, поэтому для полноценной оценки функциональной активности (адренореактивности) тромбоцитов исследование адреналин-индуцированной агрегации было проведено в

диапазоне от высокой 10 мкг/мл до низкой 2,5 мкг/мл концентрации индуктора, результаты представлены в табл. 4-6.

В физиологических условиях адреналин активирует тромбоциты циркулирующей крови, что приводит к секреции АДФ из плотных гранул клеток, и по принципу положительной обратной связи усиливается стимулирующий сигнал [14,15].

При использовании адреналина *in vitro* в высокой концентрации у пациентов с пароксизмальной формой ФП, как принимающих, так и не принимающих β -АБ отмечены более низкие значения среднего размера агрегатов, светопропускания и скорости образования агрегатов по сравнению с группой здоровых добровольцев. Терапия β -адреноблокаторами у пациентов с пароксизмальной формой ФП оказывает влияние на функциональную активность тромбоцитов в ответ на адреналин в концентрации 10 мкг/мл, отмечено снижение степени и скорости агрегации тромбоцитов. В группе пациентов с персистирующей формой ФП по сравнению с группой пациентов с пароксизмальной формой ФП, не было отмечено различий в параметрах агрегации тромбоцитов и цифровые значения среднего размера агрегатов и светопропускания не отличаются от значений в группе здоровых добровольцев.

Следующим этапом нашей работы было исследование агрегационной активности тромбоцитов в ответ на адреналин в концентрации 5 мкг/мл (табл.5).

Таблица 3

Параметры коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов с фибрилляцией предсердий и здоровых добровольцев

Параметры	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, не принимающие β -АБ (n=10)	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, принимающие β -АБ (n=6)	Пациенты с персистирующей формой ФП, не принимающие β -АБ(n=9)	Пациенты с персистирующей формой ФП, принимающие β -АБ(n=5)	Здоровые добровольцы (n=27)
CPA, ед.	12,35 * (9,24;13,01)	9,71 * ** (8,36;12,10)	12,10 (11,20;15,01)	13,10 (9,17;17,80)	13,80 (10,60;16,10)
СП, %	72,55 (70,10;77,01)	66,30 * (54,01;72,10)	72,70 (68,30;74,60)	67,01 (63,40;70,20)	72,00 (64,50;75,10)
CPA, ед/мин	33,40 * (14,40;38,60)	17,20 * ** (11,01;24,01)	40,10 (23,80;41,50)	27,60 (23,10;59,60)	38,80 (31,5;51,20)
СП, %/мин	83,05 (62,70;97,10)	49,55 * (39,30;64,70)	79,01 (75,50;85,50)	71,30 (43,40;94,20)	85,10 (75,80;91,30)

Примечание. * - $p<0,05$ при сравнении группы с пароксизмальной формой ФП и группой здоровых добровольцев. ** – $p<0,05$ при сравнении группы пациентов с пароксизмальной формой ФП, не принимающих β -адреноблокаторы с группой пациентов с пароксизмальной формой ФП, принимающих β -адреноблокаторы.

Таблица 4

Параметры адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов, при индукции адреналином в концентрации 10 мкг/мл у пациентов с фибрилляцией предсердий и здоровых добровольцев

Параметры	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, не принимающие β -АБ (n=10)	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, принимающие β -АБ (n=6)	Пациенты с персистирующей формой ФП, не принимающие β -АБ(n=9)	Пациенты с персистирующей формой ФП, принимающие β -АБ(n=5)	Здоровые добровольцы (n=27)
CPA, ед.	8,52 * (7,68;12,20)	8,98 (7,85;11,10)	12,80 (10,90;13,50)	13,50 (10,60;13,80)	11,40 (10,10;16,10)
СП, %	51,45 (39,70;67,00)	26,25* ** (23,01;67,40)	63,90 (59,70;67,20)	52,80 (49,10;59,20)	63,20 (53,20;68,60)
CPA, ед/мин	8,27 * (6,99;11,80)	9,23 * (4,75;10,70)	12,10 (9,46;16,01)	17,30 (15,30;20,90)	25,30 (8,14;40,60)
СП, %/мин	25,60 * (17,70;37,80)	18,60 * (13,40;31,20)	30,60 * (22,90;33,40)	37,10 (35,50;45,50)	39,50 (32,60;53,80)

Примечание. * - $p<0,05$ при сравнении группы пациентов с ФП и группой здоровых добровольцев; ** – $p<0,05$ при сравнении группы пациентов с ФП, не принимающих β -адреноблокаторы с группой пациентов ФП, принимающих β -адреноблокаторы.

В группе пациентов с пароксизмальной формой ФП, как принимающих, так и не принимающих β-АБ отмечено значимое снижение скорости образования агрегатов и скорости агрегации по сравнению с группой здоровых добровольцев. Так же у пациентов в группе с пароксизмальной формой ФП, принимающих β-АБ отмечено снижение всех параметров агрегации тромбоцитов по сравнению с пациентами без терапии β-адреноблокаторов. В группе пациентов с персистирующей формой ФП без терапии β-АБ отмечено значимое снижение скорости образования агрегатов и скорости агрегации по сравнению с группой здоровых добровольцев.

При использовании адреналина в низкой концентрации 2,5 мкг/мл были получены данные, которые представлены в табл. 6.

В данном блоке исследования отмечено снижение степени и скорости агрегации, а также скорости образования агрегатов у пациентов как с пароксизмальной, так и с персистирующей формой ФП, независимо от терапии β-адреноблокаторами по сравнению с группой здоровых добровольцев. Внутригрупповое сравнение не выявило разницы в функциональном ответе тромбоцитов в ответ на низкие концентрации адреналина. Полученные нами результаты исследования показали, что при концентрации адреналина 10-5 мкг/мл отмечается снижение функционального ответа тромбоцитов

у пациентов с пароксизмальной формой ФП, наиболее выраженное снижение выявлено у пациентов, принимающих β-адреноблокаторы. При использовании малых доз адреналина 2,5 мкг/мл отмечается снижение параметров агрегации в обеих группах пациентов по сравнению со здоровыми добровольцами, и не зависит ни от вида фибрилляции предсердий, ни от терапии β-адреноблокаторами.

Реакция тромбоцитов на внешние стимулы зависит от соотношения внеклеточных сигналов, активирующих и ингибирующих активность клеток. Спонтанная агрегация тромбоцитов зависит от воздействий сил сдвига, изменения состава плазмы, циркулирующих биологически активных веществ [15,16]. В результате нашего исследования отмечено повышение спонтанной агрегации тромбоцитов у всех пациентов с фибрилляцией предсердий по сравнению с группой здоровых добровольцев, наиболее выраженное увеличение функциональной активности клеток наблюдается в группе пациентов с персистирующей формой ФП. Коллаген характеризует адгезивную сенсibilизированность тромбоцитов [7], в нашем исследовании в группе пациентов с пароксизмальной формой ФП, принимающих β-адреноблокаторы отмечено снижение коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов по сравнению со здоровыми добровольцами. Таким образом, на функциональную актив-

Таблица 5

Параметры адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов, при индукции адреналином в концентрации 5 мкг/мл у пациентов с фибрилляцией предсердий и здоровых добровольцев

Параметры	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, не принимающие β-АБ (n=10)	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, принимающие β-АБ (n=6)	Пациенты с персистирующей формой ФП, не принимающие β-АБ (n=9)	Пациенты с персистирующей формой ФП, принимающие β-АБ (n=5)	Здоровые добровольцы (n=27)
CPA, ед.	10,32 (6,36;11,90)	9,02 (6,38;12,60)	9,04 (3,49;11,90)	10,60 (9,77;14,40)	11,60 (9,07;13,90)
СП, %	42,60 (35,00;66,90)	25,35 * (19,90;63,90)	55,01 (9,31;59,30)	48,10 (32,40;55,90)	59,50 (57,30;65,10)
CPA, ед/мин	8,54 * (5,75;16,10)	6,11 * (3,78;10,80)	6,97 * (3,21;10,80)	13,20 (13,20;14,90)	11,90 (7,97;24,10)
СП, %/мин	21,85 * (18,01;36,80)	15,25 * (12,30;33,01)	19,80 * (9,63;30,40)	33,90 (24,10;45,20)	37,70 (35,00;48,50)

Примечание. * - $p < 0,05$ при сравнении группы пациентов с ФП и группой здоровых добровольцев.

Таблица 6

Параметры адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов, при индукции адреналином в концентрации 2,5 мкг/мл у пациентов с фибрилляцией предсердий и здоровых добровольцев

Параметры	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, не принимающие β-АБ (n=10)	Пациенты с пароксизмальной формой ФП, принимающие β-АБ (n=6)	Пациенты с персистирующей формой ФП, не принимающие β-АБ (n=9)	Пациенты с персистирующей формой ФП, принимающие β-АБ (n=5)	Здоровые добровольцы (n=27)
CPA, ед.	8,57 (6,43;10,40)	7,41 * (6,37;8,22)	9,93 (2,79;12,90)	10,30 (8,68;13,10)	10,60 (8,73;13,70)
СП, %	29,70 * (25,40;60,60)	37,70 (22,70;63,10) P=0,06	27,50 * (8,97;60,70)	22,30 * (20,90;57,30)	61,20 (38,80;64,90)
CPA, ед/мин	7,67 * (4,42;12,80)	4,54 * (3,97;7,18)	5,18 * (2,33;12,90)	11,70 (10,50;13,70)	15,70 (8,04;21,30)
СП, %/мин	18,55 * (12,80;27,90)	18,05 * (13,10;28,80)	13,30 * (7,84;29,60)	22,01 (18,20;26,70) P=0,06	32,30 (29,90;49,40)

Примечание. * - $p < 0,05$ при сравнении группы пациентов с ФП и группой здоровых добровольцев.

ность тромбоцитов в ответ на коллаген оказывает влияние тип фибрилляции предсердий, а также получаемая терапия, в частности наличие β -адреноблокаторов.

Одним из механизмов активации агрегационной активности клеток у больных с ФП является активация симпатно-адреналовой системы, при этом избыток катехоламинов напрямую может активировать адгезию и агрегацию клеток [17,18]. Адреноблокаторы замещают собой катехоламины на адренорецепторах и, таким образом, препятствуют активации тромбоцитов, реализуя антиагрегантный эффект назначаемых β -АБ [13]. Происходит снижение катехоламинового повреждение эндотелия, что способствует нормализации эндотелиальной функции, увеличение содержания оксида азота с восстановлением ангиагрегантных свойств [6,19]. Нами обнаружено, что при концентрации адреналина в реакционной среде 2,5 мкг/мл, отмечена выраженная гипoadренореактивность тромбоцитов, как у пациентов с пароксизмальной, так и с персистирующей формой ФП, наличие или отсутствие терапии β -АБ, при этом, не оказывает существенного влияния на агрегацию тромбоцитов. При проведении корреляционного анализа нами была получена отрицательная взаимосвязь между степенью агрегации при спонтанной агрегации и степенью и скоростью агрегации в ответ на индукцию адреналином в концентрации 5 мкг/мл ($r = -0,73$ и $r = -0,67$, соответственно $p < 0,05$), и в концентрации 2,5 мкг/мл ($r = -0,90$, $p < 0,05$) в группе пациентов с пароксизмальной формой ФП, принимающих β -АБ. Однако, данный эффект гипoadренореактивности «исчезает» в группе пациентов с персистирующей формой ФП при действии высоких доз адреналина в реакционной среде. При длительном нарушении ритма сердца начинают оказывать влияние факторы, связанные с внутрисердечной гемодинамикой и активацией системы свертывания крови [4,19]. Возможно, это связано со снижением эффекта назначаемого адреноблокатора, «феномен ускользания рецепторов» от действия препарата при длительном применении, или же существует «критический» диапазон чувствительности адренорецепторов, зависящий от большого количества факторов, включая длительность заболевания и получаемую пациентами терапию [13]. Несомненно, повышенная спонтанная агрегация вносит существенный вклад в изменение функциональной активности тромбоцитов у пациентов с фибрилляцией предсердий [15] и длительное нарушение ритма сердца приводит к нарушению функциональной активности клеток [3].

Важное значение в организме имеет способность адреналина потенцировать действие других агонистов, так как в физиологических условиях катехоламины являются слабыми агонистами агрегации [14]. При воздействии слабых агонистов происходит праймирование тромбоцитов, а далее активация может быть синергично увеличена другими агентами различными путями [12,18]. Адреналин взаимодействует с адренорецепторами на поверхности клеток, происходит секреция АДФ из плотных гранул, который через пуриnergические рецепторы P2Y1 и P2Y12 на поверхности тромбоцита, с участием сопряженности $\alpha 2$ -адренорецепторов и P2Y12 пуриновых рецепторов с Gi-белком сигнальных путей, приводит к повышению функциональной активности тромбоцитов [14,15]. Возможно, длительность заболевания, метаболические и реологические изменения в крови вносят существенный вклад в изменение функционального состояния мембран тромбоцитов [3,4], что приводит к гиперадренореактив-

ности тромбоцитов в нашем исследовании при действии высоких концентраций адреналина *in vitro*. При изменении функционального ответа тромбоцитов ключевым вопросом всегда остается установление обратимости реакций, что требует дальнейшего углубленного изучения.

Заключение. Полученные нами результаты исследований позволяют прийти к нескольким выводам. Во-первых, спонтанный агрегационный потенциал тромбоцитов зависит от типа фибрилляции предсердий, а также от наличия или отсутствия в терапии бета-адреноблокаторов, при отсутствии β -АБ отмечено увеличение параметров спонтанной агрегации как при пароксизмальной, так и при персистирующей ФП, что в будущем может создавать условия для гиперреактивности тромбоцитов и возникновению осложнений в виде тромбозов. Во-вторых, коллаген-индуцированная агрегация тромбоцитов также зависит от типа фибрилляции предсердий и от наличия или отсутствия в терапии β -АБ, сниженные показатели параметров агрегации отмечаются у пациентов с пароксизмальной формой и принимающих β -АБ. В-третьих, адренореактивность тромбоцитов *in vitro* зависит от концентрации адреналина в реакционной среде и типа фибрилляции предсердий, наиболее существенные изменения отмечены в группе пациентов с пароксизмальной формой, принимающих β -АБ. Характер выявленных изменений требует дальнейшего изучения агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с различными типами фибрилляции предсердий, что позволит расширить тактику фармакологической коррекции, направленной на профилактику тромбозов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 3-6, 12, 17-19 см. REFERENCES)

1. Татарский Б.А., Баталов Р.Е., Попов С.В. Фибрилляция предсердий: патофизиологические подходы к выбору антиаритмической терапии. Томск: STT; 2013.
2. Довгалецкий Я.П., Кувшинова Л.Е., Грайфер И.В., Фурман Н.В., Довгалецкий П.Я. Антитромботическая терапия при фибрилляции предсердий: современные подходы и ближайшие перспективы. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2011; 7(5): 628-36.
7. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 1. Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток. *Медицинская иммунология*. 2018; 20(6): 785-96.
8. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н., Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 2. Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток. *Медицинская иммунология*. 2019; 21(6): 9-20.
9. Кривошеев Ю.С., Башта Д.И., Красильникова С.Ю., Виленский Л.И., Колесников В.Н., Чуков С.З. и др. Тромбоз уха левого предсердия при фибрилляции предсердий – современное состояние проблемы. *Вестник аритмологии*. 2019; 4(98): 13-20.
10. Габбасов З.А., Попов Е.Г., Гаврилов И.Ю. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов. *Лабораторное дело*. 1989; (10): 15-8.
11. Огуркова О.Н., Сулова Т.Е., Ситожевский А.В., Кошельская О.А. Изучение ц-АМФ и ц-ГМФ-зависимых сигнальных систем в инсулинопосредованной агрегации тромбоцитов у пациентов с сердечной недостаточностью и метаболическими нарушениями. *Бюллетень сибирской медицины*. 2012; 11(6): 76-81.
13. Закирова А.Н., Зарудий Ф.С., Гарифуллин Б.Н. Бета-адреноблокаторы и агрегация тромбоцитов. Карведилол. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2008; 4(2): 81-4.

14. Баринов Э.Ф., Мамедалиев С. А., Твердохлеб Т.А., Балькина А.О. Взаимодействие адреналина и АДФ в регуляции функциональной активности тромбоцитов при хронической ишемии мозга. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(2): 51—5.
15. Козловский В.И., Ковтун О.М., Сероухова О.П., Детковская И.Н., Козловский И.В. Методы исследования и клиническое значение агрегации тромбоцитов. Фокус на спонтанную агрегацию. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2013; 12(4): 79-91.
16. Мансурова Д.А., Жунуспекова А.С., Каражанова Л.К. Референсные значения агрегации тромбоцитов у здоровых лиц. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2018; 63(9): 549-52.

REFERENCES

1. Tatarskiy B.A., Batalov R.E., Popov S.V. Atrial fibrillation: pathophysiological approaches to the choice of antiarrhythmic therapy. Tomsk: STT; 2013. (in Russian)
2. Dovgalevskiy Ya.P., Kuvshinova L.E., Grayfer I.V., Furman N.V., Dovgalevskiy P.Ya. Antithrombotic therapy for atrial fibrillation: current approaches and immediate prospects. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii*. 2011; 7(5): 628-36. (in Russian)
3. Sohara H., Amitani S., Kurose M., Miyahara K. Atrial fibrillation activates platelets and coagulation in a time-dependent manner: A study in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *Journal of the American College of Cardiology*. 1997; 29(1): 106-12.
4. Li-Saw-Hee F.L., Blann A.D., Gurney D., Lip G.Y. Plasma von Willibrand factor, fibrinogen and soluble P-selectin levels in paroxysmal, persistent and permanent atrial fibrillation. Effects of cardioversion and return of left atrial function. *Eur. Heart J.* 2001; 2: 1741-7.
5. Khairy M, NasrEldin E, Elsharkawi A. Preoperative platelet activation markers as a risk predictor of postoperative atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting. *Int. J. Cardiovasc. Res.* 2019; 8(2): e1000401.
6. Yoshino Satoshi, Yoshikawa Akiko, Shuichi Hamasakia et al., Atrial fibrillation-induced endothelial dysfunction improves after restoration of sinus rhythm. *International Journal of Cardiology*. 2013; 168(2): 1280-5.
7. Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakutseni P.P. Platelets as activators and regulators of inflammatory and immune responses. Part 1. The main characteristics of platelets as inflammatory cells. *Meditsinskaya immunologiya*. 2018; 20(6):785-96. (in Russian)
8. Serebryanaya N.B., Shanin S.N., Fomicheva E.E., Yakutseni P.P. Platelets as activators and regulators of inflammatory and immune responses. Part 2. The main characteristics of platelets as inflammatory cells. *Meditsinskaya immunologiya*. 2019; 21(6): 9-20. (in Russian)
9. Krivosheev Yu.S., Bashta D.I., Krasil'nikova S.Yu., Vilenskiy L.I., Kolesnikov V.N, Chukov S.Z. et al. Left atrial ear thrombosis with atrial fibrillation is the current state of the problem. *Vestnik aritmologii*. 2019; 4(98):13-20. (in Russian)
10. Gabbasov Z.A., Popov E.G., Gavrilov I.Yu. New highly sensitive platelet aggregation assay. *Laboratornoe delo*. 1989; (10):15-8. (in Russian)
11. Ogurkova O.N., Suslova T.E., Sitozhevskiy A.V., Koshel'skaya O.A. The study of c-AMP and c-GMP-dependent signaling systems in the inulin-mediated platelet aggregation in patients with heart failure and metabolic disorders. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2012; 11(6): 76-81. (in Russian)
12. Koltai K., Kesmarky G., Feher G., Tibold A., Toth K. Platelet Aggregometry Testing: Molecular Mechanisms, Techniques and Clinical Implications. *Int. J. Mol. Sci.* 2017; 18(8). 1803-25.
13. Zakirova A.N., Zarudiy F.S., Garifullin B.N. Beta-blockers and platelet aggregation. Carvedilol. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii*. 2008; 4(2): 81-4. (in Russian)
14. Barinov E.F, Mamedaliev S. A., Tverdokhleб T.A., Balykina A.O. The interaction of adrenaline and ADP in the regulation of the functional activity of platelets in chronic brain ischemia. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2017; 61(2): 51-5. (in Russian)
15. Kozlovskiy V.I., Kovtun O.M., Seroukhova O.P., Detkovskaya I.N., Kozlovskiy I.V. Research methods and clinical significance of platelet aggregation. Focus on spontaneous aggregation. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2013; 12(4): 79-91. (in Russian)
16. Mansurova D.A., Zhunuspekova A.S., Karazhanova L.K. Reference values of platelet aggregation in healthy individuals. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63(9): 549-52. (in Russian)
17. Kamath S., Blann A. D., Chin B. S. P. et al. A study of platelet activation in atrial fibrillation and the effects of antithrombotic therapy. *European Heart Journal*. 2002; 23(22). 1788-95.
18. Nathan P., Goh V., Mahadevan G., Stewart, Horowitz J. Platelet reactivity is independent of left atrial wall deformation in patients with atrial fibrillation. *Mediators of Inflammation*; 2016; 1-5.
19. Minamino T., Kitakaze M., Sato H. et al. Plasma levels of nitrite/nitrate and platelet cGMP levels are decreased in patients with atrial fibrillation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 3191-5.

Поступила 20.06.20
Принята к печати 01.09.20