

Е.Ю. Алексенко, А.В. Говорин, С.М. Цвингер

НИТРОКСИДПРОДУЦИРУЮЩАЯ ФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И АГРЕГАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМ ОСТЕОАРТРОЗОМ

Читинская государственная медицинская академия (Чита)

У 84 пациентов с первичным остеоартрозом исследована нитроксидпродуцирующая функция эндотелия, агрегационная способность тромбоцитов и активность фактора Виллебранда. Наибольшее снижение нитроксидпродуцирующей функции эндотелия, повышение агрегационного потенциала тромбоцитов и увеличение активности фактора Виллебранда установлено при длительности заболевания более 5 лет и генерализованной форме первичного остеоартроза.

Ключевые слова: остеоартроз, агрегация тромбоцитов, оксид азота

NITROXIDEPRODUCTIVE FUNCTION OF ENDOTHELIAL CELLS AND AGGREGATIVE ABILITY OF THROMBOCYTES IN PATIENTS WITH PRIMARY OSTEOARTHRITIS

E.U. Aleksenko, A.V. Govorin, S.M. Tsvinger

Chita State Medical Academy, Chita

We examined nitroxideproductive function of endothelial cells, aggregative ability of thrombocytes and activity of Willebrand factor in 84 patients with primary osteoarthritis. The most significant decrease of nitroxideproductive function of endothelial cells, increase of aggregative ability of thrombocytes and increase of activity of Willebrand factor was determined at the length of disease more than 5 years and generalized form of primary osteoarthritis.

Key words: osteoarthritis, aggregation of thrombocytes, nitric oxide

В современной клинической практике большое внимание уделяется состоянию эндотелия, так как его дисфункция рассматривается в качестве раннего маркера сердечно-сосудистых нарушений [3, 7, 8, 9]. Уровень оксида азота в кровеносном русле отражает степень нарушения эндотелиальной функции, так как это соединение участвует в реализации эндотелийзависимой вазодилатации и обеспечивает антитромбогенные свойства сосудистой стенки [2, 6]. Ведущим звеном в развитии фатальных сосудистых осложнений является патологическое тромбообразование, связанное с адгезией и агрегацией тромбоцитов в местах повреждения эндотелия [1, 4]. Однако изменения нитроксидпродуцирующей функции эндотелия и тромбоцитарного звена гемостаза, а также взаимосвязь указанных процессов у больных первичным остеоартрозом (ПОА) изучены недостаточно.

Целью исследования явилось изучение состояния нитроксидпродуцирующей функции эндотелия и тромбоцитарного звена гемостаза у больных первичным остеоартрозом с различной длительностью и формой заболевания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение показателей нитроксидпродуцирующей функции эндотелия и агрегационной способности тромбоцитов было проведено у 84 больных первичным остеоартрозом. Средний возраст обследуемых составил $38,2 \pm 8,6$ лет; женщин было 54 (64 %), мужчин — 30 (36 %). Группа контроля состояла из 22 здоровых лиц, сопоставимых по полу и возрасту. Все обследуемые

дали информированное согласие на проведение манипуляций.

Нитроксидпродуцирующую функцию эндотелия определяли по содержанию нитрита/нитрата и суммарных метаболитов оксида азота (NO_3 , NO_2 , NO_x) в сыворотке крови с использованием метода П.П. Голикова (2004) [2].

Агрегацию тромбоцитов исследовали с помощью стандартного турбодиметрического метода с использованием двухканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов «Биола» (модель ЛА230, Россия). Оценивали степень и скорость спонтанной и индуцированной агрегации. В качестве индуктора агрегации использовали раствор аденозиндифосфата (АДФ) в концентрации 5 мкг/мл.

Активность фактора Виллебранда (vWF) оценивали по его способности вызывать агглютинацию тромбоцитов в присутствии антибиотика ристоцетина. Определение проводили с помощью двухканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов «Биола», сопряженного с компьютером, согласно инструкции прилагаемой к набору реактивов.

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики для несвязанных между собой наблюдений с помощью пакета программ «Statistica 6.0». Распределение практически всех вариационных рядов не подчинялось критериям нормальности, поэтому использовались методы непараметрической статистики. Группы сравнивали попарно при помощи вычисления U-критерия Манна — Уитни и критерия χ^2 . Корреляционный анализ выполнен с применением коэффициента

ранговой корреляции Спирмена (R). Статистически значимыми считали различия между группами при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В зависимости от длительности первичного остеоартроза все больные были разделены на две группы: пациенты, страдающие заболеванием до 5 лет (46 человек) и более 5 лет (38 человек). Как видно из данных, представленных в таблице 1, концентрации NO_3 , NO_2 , NO_x менялись в одном направлении. По сравнению с контролем, в группе пациентов с длительностью первичного остеоартроза до 5 лет указанные показатели были меньше на 11 %, 11 % и 9 % соответственно; а при длительности заболевания более 5 лет — на 15 %, 21 % и 10 % соответственно. При этом значимых отличий между группами пациентов с различной длительностью заболевания установлено не было.

Активность vWF достоверно возрастала у всех больных первичным остеоартрозом ($p < 0,05$). При длительности заболевания более 5 лет она была на 40 % больше, чем в контроле, и на 30 % превышала показатель пациентов, страдающих первичным остеоартрозом менее 5 лет.

При исследовании агрегационного потенциала крови у больных с различной давностью первичного остеоартроза было выявлено усиление спонтанной агрегации тромбоцитов (табл. 2). Нарастание спонтанной агрегации происходило по мере удлинения анамнеза заболевания ($p < 0,05$).

При использовании в качестве индуктора агрегации тромбоцитов АДФ наблюдалась повышенная агрегационная активность тромбоцитов у всех пациентов с первичным остеоартрозом, достигающая максимальных значений при длительности заболевания более 5 лет.

В зависимости от количества пораженных суставов, согласно клиническим рекомендациям Ассоциации ревматологов России, все обследуемые больные были разделены на пациентов с олигоостеоартрозом и полиостеоартрозом. Согласно данным, представленным в таблице 3, наибольшее снижение концентрации NO_3 , NO_2 и NO_x наблюдалось у пациентов с генерализованной формой поражения суставов. В группе полиостеоартроза по сравнению с группой олигоостеоартроза указанные показатели были меньше на 6 %, 2,3 % и 5 %; а по сравнению с контролем — на 15 %, 17 % и 13 % соответственно. Кроме того, больные данной группы имели самые высокие показатели активности vWF (127 % по сравнению с олигоостеоартрозом и 140 % по сравнению с контролем).

При исследовании агрегационной способности тромбоцитов у больных первичным остеоартрозом в зависимости от формы заболевания установлено, что в группе пациентов с полиостеоартрозом спонтанная агрегация кровяных пластинок значительно выше таковой при олигоостеоартрозе ($p < 0,05$) (табл. 4). При добавлении АДФ максимальное усиление агрегации тромбоцитов также зарегистрировано у больных с генерализованной формой заболевания ($p < 0,01$).

Таблица 1
Показатели функции эндотелия у больных первичным остеоартрозом с различной длительностью заболевания, (медиана, 25–75-й перцентили)

Показатель	Контрольная группа ($n = 22$)	1-я группа: больные с длительностью ОА < 5 лет ($n = 39$)	2-я группа: больные с длительностью ОА > 5 лет ($n = 30$)
NO_3 , мкмоль/л	23,8 [21,1–26,2]	21,1 [19,5–24,2] $p_{K-1} < 0,05$	20,3 [16,5–21,7] $p_{K-2} < 0,01$
NO_2 , мкмоль/л	5,3 [4,6–5,9]	4,7 [3,6–5,4] $p_{K-1} < 0,05$	4,2 [3,7–4,9] $p_{K-2} < 0,01$
NO_x , мкмоль/л	28,4 [26,4–31,5]	25,9 [23,3–30,8] $p_{K-1} < 0,05$	25,5 [19,9–26] $p_{K-2} < 0,01$
vWF, %	62 [48–78]	80 [72–120] $p_{K-1} < 0,05$	115 [104–133] $p_{K-2} < 0,001$; $p_{1-2} < 0,05$

Примечание: p_{K-1} – различия между контрольной и 1-й группами; p_{K-2} – различия между контрольной и 2-й группами; p_{1-2} – различия между 1-й и 2-й группами.

Таблица 2
Агрегационная способность тромбоцитов у больных с различной длительностью первичного остеоартроза А (медиана, 25–75-й перцентиль)

Группы	Кривая среднего размера агрегатов			
	Спонтанная агрегация		АДФ, 5 мкг/мл	
	Макс. знач., ед.	Макс. накл., ед./мин.	Макс. знач., ед.	Макс. накл., ед./мин.
Контрольная группа ($n = 22$)	0,98 [0,91–1,22]	0,26 [0,24–0,51]	6,22 [4,21–6,73]	17,34 [4,72–17,31]
1-я группа, больные с длительностью ОА < 5 лет ($n = 39$)	1,23 [1,14–1,32] $p_{K-1} < 0,05$	0,31 [0,24–0,53] $p_{K-1} < 0,05$	10,12 [8,64–11,21] $p_{K-1} < 0,05$	27,85 [14,81–32,42] $p_{K-1} < 0,05$
2-я группа, больные с длительностью ОА > 5 лет ($n = 30$)	1,75 [0,92–2,12] $p_{K-2} < 0,01$; $p_{1-2} < 0,05$	0,6 [0,54–1,21] $p_{K-2} < 0,01$; $p_{1-2} < 0,05$	12,44 [6,55–13,14] $p_{K-2} < 0,05$; $p_{1-2} < 0,05$	30,23 [23,04–35,12] $p_{K-2} < 0,05$

Примечание: макс. знач. – максимальное значение; макс. накл. – максимальный наклон; p_{K-1} – различия между контрольной и 1-й группами; p_{K-2} – различия между контрольной и 2-й группами; p_{1-2} – различия между 1-й и 2-й группами.

Таблица 3

Показатели функции эндотелия у больных с различной формой первичного остеоартроза
(медиана, 25–75-й перцентили)

Показатель	Контрольная группа (n = 22)	1-я группа, больные с олигоостеоартрозом (n = 51)	2-я группа, больные с полиостеоартрозом (n = 42)
NO ₃ , мкмоль/л	23,8 [21,1–26,2]	21,5 [19,5–27,1]	20,2 [16,2–21] $p_{k-2} < 0,01$; $p_{1-2} < 0,01$
NO ₂ , мкмоль/л	5,3 [4,6–5,9]	4,3 [3,8–5,4]	4,4 [3,5–5,0] $p_{k-2} < 0,01$; $p_{1-2} < 0,05$
NO _x , мкмоль/л	28,4 [26,4–31,5]	25,8 [23,3–32,5]	24,6 [19,7–26] $p_{k-2} < 0,01$; $p_{1-2} < 0,05$
vWF, %	62 [48–78]	84 [73–108]	115 [87–167] $p_{k-2} < 0,001$; $p_{1-2} < 0,01$

Примечание: p_{k-2} – различия между контрольной и 2-й группами; p_{1-2} – различия между группами 1-й и 2-й группами.

Таблица 4

Агрегационная способность тромбоцитов у больных с различной длительностью первичного остеоартроза
(медиана, 25–75-й перцентиль)

Группы	Кривая среднего размера агрегатов			
	Спонтанная агрегация		АДФ, 5 мкг/мл	
	Макс. знач., ед.	Макс. накл., ед./мин	Макс. знач., ед.	Макс. накл., ед./мин
Контроль (n = 22)	0,98 [0,91–1,22]	0,26 [0,24–0,51]	6,22 [4,21–6,73]	17,34 [4,72–17,31]
1-я группа, больные с олигоостеоартрозом (n = 46)	1,33 [0,95–1,83] $p_{k-1} < 0,05$	0,51 [0,22–0,64] $p_{k-1} < 0,05$	6,55 [5,56–9,83] $p_{k-1} < 0,05$	17,35 [11,71–28,62] $p_{k-1} < 0,05$
2-я группа, больные с полиостеоартрозом (n = 38)	1,35 [1,22–1,81] $p_{k-2} < 0,01$; $p_{1-2} < 0,05$	0,53 [0,41–0,87] $p_{k-2} < 0,01$; $p_{1-2} < 0,05$	11,94 [7,35–12,94] $p_{k-2} < 0,05$; $p_{1-2} < 0,05$	36,23 [20,14–38,23] $p_{k-2} < 0,05$; $p_{1-2} < 0,05$

Примечание: макс. знач. – максимальное значение; макс. накл. – максимальный наклон; p_{k-1} – различия между контрольной и 1-й группами; p_{k-2} – различия между контрольной и 2-й группами; p_{1-2} – различия между 1-й и 2-й группами.

Выявлена обратная корреляционная зависимость между уровнем NO_x и активностью vWF ($R = -0,6$; $p < 0,05$). Известно, что vWF является индуктором реализации агрегационного потенциала плазмы. Его избыток может служить показателем повышенной травмируемости эндотелия и вызывать усиленную фиксацию тромбоцитов на субэндотелии, являясь одним из пусковых механизмов гиперагрегации тромбоцитов [1, 6].

Продукция оксида азота характеризуется разнонаправленными изменениями и во многом зависит от характера, стадии, активности патологического процесса [5, 8, 10]. У больных первичным остеоартрозом снижение концентрации оксида азота обусловлено, с одной стороны, нарушением его продукции вследствие повреждения эндотелия воспалительными агентами, а с другой стороны – ускоренным его разрушением в условиях окислительного стресса. Снижение содержания эндотелиального фактора релаксации сосудов в крови пациентов с первичным остеоартрозом приводит к меньшей реализации его антитромбогенного эффекта и возрастанию агрегационной активности тромбоцитов и vWF.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У больных первичным остеоартрозом выявлено значительное снижение нитрооксидпродуцирующей функции эндотелия, повышение агрегационного потенциала тромбоцитов и увеличение активности vWF. Максимальные отклонения указанных параметров выявлены при длительности заболевания более 5 лет и генерализованной форме первичного остеоартроза.

ЛИТЕРАТУРА

- Витковский Ю.А. Состояние защитных систем при гипертензиях и ишемической болезни сердца. – Чита, 1999. – 88 с.
- Голиков П.П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний. – М.: ИД Медпрактика, 2004. – 180 с.
- Демина А.Б., Раденска-Лоповок С.Г., Фоломеева О.М., Эрдес Ш. Причины смерти больных с ревматическими заболеваниями в Москве // Терапевтический архив. – 2005. – № 4. – С. 77–82.
- Карпов Ю.А. Ацетилсалициловая кислота – ключевая позиция в первичной и вторичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений // Русский медицинский журнал. – 2008. – № 11. – С. 1554–1557.
- Клименко О.В., Витковский Ю.А. Влияние различных цитокинов на синтез оксида азота // Проблемы биорегулирующей терапии в эксперименте и клинике: сб. науч. трудов. – Чита, 2002. – С. 8.
- Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. – Чита, 2010. – 832 с.
- Deanfield J.E., Halcox J.P., Rabelink T.J. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance // Circulation. – 2007. – Vol. 115. – P. 1285–1295.
- Linder L. et al. Indirect evidence for release of endothelium-derived relaxing factor in human forearm circulation *in vivo*: blunted response in essential hypertension // Circulation. – 1990. – Vol. 81. – P. 1762–1767.

9. Luscher T.F., Noll G. The pathogenesis of cardiovascular disease: role of the endothelium as a target and mediator // Atherosclerosis. — 1995. — Vol. 118. — P. 81 — 90.

10. Ni J., Ding R., Wang W., Chen Y. Change in nitric oxide contents of knee joint fluid in patients with degenerative steoarthritis // Bull. Human Med. Univ. — 1997. — Vol. 22, N 7. — P. 333 — 334.

Сведения об авторах

Алексенко Елена Юрьевна – кандидат медицинских наук, заведующая кафедрой поликлинической терапии с курсом общей врачебной практики Читинской государственной медицинской академии (672090, г. Чита, ул. Горького 39а; тел.: 8 (3022) 31-42-54, 8 (914) 526-00-98; e-mail: e-alexe@mail.ru)

Говорин Анатолий Васильевич – доктор медицинских наук, профессор, ректор, заведующий кафедрой факультетской терапии Читинской государственной медицинской академии

Цвингер Светлана Матвеевна – ассистент кафедры поликлинической терапии с курсом общей врачебной практики Читинской государственной медицинской академии