

Особенности агрегационной активности тромбоцитов у детей с *Helicobacter pylori*-ассоциированным хроническим гастритом и дуоденальной язвой

Кухтик О.В.

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск

Kukhtik O.V.

National Research Center «Mother and child», Minsk, Belarus

Peculiarities of aggregation activity of platelets in children with *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis and duodenal ulcer

Резюме. Сведения, касающиеся тромбоцитарного звена системы гемостаза у пациентов с *H. pylori*, единичны и носят подчас противоречивый характер. Установлено, что у детей пубертатного периода с хроническим гастритом, ассоциированным с *H. pylori*, агрегационная активность тромбоцитов, индуцированная H_2O_2 в концентрации $5,0 \times 10^{-3}$ М, сопряжена со степенью колонизации *H. pylori* слизистой оболочки желудка, а при *H. pylori*-ассоциированной дуоденальной язве степень дезагрегационной активности тромбоцитов, индуцированной H_2O_2 в концентрации $5,0 \times 10^{-3}$ М, снижена и сопряжена с длительностью анамнеза заболевания.

Ключевые слова: хронический гастрит, дуоденальная язва, *H. pylori*, тромбоциты, агрегационная и дезагрегационная активность тромбоцитов.

Медицинские новости. – 2013. – №8. – С.63–66.

Summary. There is some information regarding platelet hemostasis in patients with *H. pylori*. Sometimes data, regarding platelet aggregation, are conflicting. We found that adolescents with chronic gastritis associated with *H. pylori*, platelet aggregation induced by H_2O_2 by the concentration of $5,0 \times 10^{-3}$ M, paired with the degree of colonization of gastric mucosa by *H. pylori*, and in *H. pylori*-associated duodenal ulcer degree of platelet disaggregation induced by H_2O_2 by the concentration of $5,0 \times 10^{-3}$ M, and is associated with disease duration.

Keywords: chronic gastritis, duodenal ulcer, *H. pylori*, platelet aggregation and platelet disaggregation.

Meditsinskie novosti. – 2013. – N8. – P.63–66.

Уточнение особенностей ответа детского организма на инфекцию *H. pylori* может иметь практическое значение. Согласно существующим рекомендациям, у детей диагностировать *H. pylori* предпочтительно неинвазивными методами [4, 6]. Вместе с тем в популяции с высокой распространенностью *H. pylori*, в частности белорусской, важно уточнение формы ассоциированной гастродуоденальной патологии в связи с риском эрозивно-язвенных поражений. При ограничениях эндоскопических исследований у детей выявление некоторых метаболических нарушений у инфицированного *H. pylori* ребенка, позволяющих не только объяснить механизмы того или иного варианта течения *H. pylori*-ассоциированного заболевания, но и оценить их с позиции возможного использования в качестве диагностических тестов, может иметь практическое значение.

Исследования, проведенные Wassermann G.E. et al. в 2009 г., показали, что очищенная уреазы *H. pylori* активирует тромбоциты кролика по липоксигеназному пути [5]. Это свойство присуще всем уреазам независимо от их источника

(растения или бактерии) или структуры (первичная, вторичная или третичная структура белка). Благодаря этим свойствам уреазы *H. pylori* играет важную роль в патогенезе желудочно-кишечных заболеваний, вызванных *H. pylori*.

Эйкозаноид простаглицлин отвечает за вазодилатацию сосудов, но при его недостатке развивается вазоконстрикция сосудов, повышается агрегация тромбоцитов, способствующая тромбообразованию. Ученые предположили, что уреазы *H. pylori* оказывают секреторное действие, модулируя метаболизм эйкозаноидов через липоксигеназный путь [7].

При измерении параметров агрегации тромбоцитов с использованием в качестве индуктора агрегации АДФ в концентрации $10,0 \times 10^{-6}$ М установлено, что *H. pylori* может вызвать дисфункцию тромбоцитов у детей, при этом эрадикационная терапия нормализует состояние тромбоцитов [8].

Агрегационный потенциал тромбоцитов зависит не только от выраженности их агрегационных свойств, но и от способности к дезагрегации. Именно нарушение равновесия между механиз-

мами агрегации и дезагрегации создает конечный про- или антиагрегантный эффект [3]. В данном исследовании в качестве индуктора использовался H_2O_2 . Показано, что агрегационный эффект H_2O_2 проявлялся в интервале концентраций $(1,5–8,0) \times 10^{-3}$ М. При действии H_2O_2 в концентрациях, меньших $1,5 \times 10^{-3}$ М, тромбоциты слабо агрегировали друг с другом, а при концентрации $5,0 \times 10^{-3}$ М скорость агрегации была максимальной [1–3]. Для исследования агрегации тромбоцитов у детей с хроническим гастритом и дуоденальной язвой нами была выбрана концентрация H_2O_2 $5,0 \times 10^{-3}$ М, так как при данной концентрации проявляется не только агрегационное, но и дезагрегационное действие H_2O_2 .

Цель исследования – установить характер изменений H_2O_2 -индуцированной агрегационной активности тромбоцитов при *H. pylori*-ассоциированных заболеваниях у детей.

Материалы и методы

Клиническое исследование проводили на базе педиатрического (гастроэнтерологического) отделения Минской детской областной клинической больницы с

Таблица 1 Параметры $5,0 \times 10^{-3}$ М H_2O_2 -индуцированной активности тромбоцитов у детей с хроническим гастритом и дуоденальной язвой, Ме (P25–P75)

| Индуктор | Параметры | Контроль ¹ , n = 40 | Хронический гастрит ² , n = 62 | Дуоденальная язва ³ , n = 41 | z (P ₁ -P ₂) | z (P ₁ -P ₃) | z (P ₂ -P ₃) |
|---|-----------|--------------------------------|---|---|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| [H ₂ O ₂], 5,0×10 ⁻³ М | T, % | 22,60 (22,0–35,30) | 39,20 (35,80–44,30) | 27,40 (21,90–34,20) | 3,481 (0,0015) | 0,966 (0,334) | 4,207 (0,003) |
| | V, %/мин | 42,80 (37,40–44,60) | 49,20 (39,20–56,60) | 47,70 (39,55–59,20) | 1,537 (0,1243) | 1,816 (0,0694) | -0,323 (0,746) |
| | Td, % | 82,57 (73,94–91,36) | 67,75 (59,95–81,0) | 62,30 (48,80–69,90) | -1,774 (0,0761) | -2,010 (0,0358) | 0,207 (0,836) |
| | Vd, %/мин | 20,80 (19,40–30,20) | 25,20 (21,20–32,40) | 23,0 (22,05–29,25) | 0,750 (0,4533) | 0,953 (0,3408) | 0,132 (0,895) |

2006 по 2010 г. В работе с детьми соблюдались этические нормы, отвечающие принципам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2008).

В исследование включено 103 ребенка пубертатного возраста (10–16 лет). У всех детей имели место заболевания гастродуоденальной зоны, ассоциированные с инфекцией *H. pylori*. Диагностика *H. pylori* проводилась морфологическим методом. Изучалось две основные формы *H. pylori*-ассоциированной патологии: хронический гастрит (ХГ) (n=62) и дуоденальная язва (ДЯ) (n=41).

Критерии включения в группу с ХГ: морфологические признаки ХГ, согласие родителей на участие в обследовании.

Критерии включения в группу с ДЯ: наличие эндоскопических признаков ДЯ, согласие родителей на участие в обследовании.

Группы были однородные по полу и возрастному составу, основное число пациентов было в возрасте 12–14 лет. Длительность анамнеза заболевания ДЯ у обследованных детей колебалась от 0

(была выявлена впервые при настоящей госпитализации) до 4 лет. Почти у половины обследованных анамнез был короткий, но несмотря на детский возраст 1/3 пациентов болели в течение 2–4 лет. Были выделены подгруппы детей с длительностью заболевания в течение года (0–12 месяцев), 1–2 лет (13–24 месяца) и более 2 лет (25 месяцев и более). Контрольную группу составили 40 детей I–II групп здоровья, не страдавших хронической патологией верхнего отдела пищеварительного тракта, по возрасту и полу сопоставимых с обследованными детьми.

Забор крови в количестве 5 мл осуществляли утром натощак через 12 часов после последнего приема пищи из локтевой вены в центрифужную пробирку, содержащую антикоагулянт 3,8 % раствор цитрата натрия, в соотношении 9:1 (v/v). В качестве материала для исследований использовали обогащенную тромбоцитами плазму и тромбоциты крови. Обогащенную тромбоцитами плазму, бестромбоцитарную плазму, отмые

тромбоциты, суспензию тромбоцитов получали, как описано в работе [2].

Статистический анализ результатов проводился при помощи программы STATISTICA 6.1. Данные представлены в виде медиан и интерквартильных размахов. Различия между группами выявляли с помощью H-теста Краскела–Уоллиса и U-теста Манна–Уитни. При корреляционном анализе использовали коэффициент Спирмена r_s.

Результаты и обсуждение

Описательная статистика анализируемых параметров $5,0 \times 10^{-3}$ М H_2O_2 -индуцированной активности тромбоцитов у детей с ХГ и ДЯ представлена в табл. 1.

По данным сравнительного анализа $5,0 \times 10^{-3}$ М H_2O_2 -индуцированной агрегации тромбоцитов, результаты у больных ХГ и ДЯ значительно различались по степени агрегации T (z=4,207, P=0,003).

Достоверное изменение агрегационной активности по сравнению со здоровыми детьми отмечалось у больных с ХГ (для степени агрегации T: z=3,481, P=0,0015) и дезагрегационной активностью

Рисунок 1 Связь степени $5,0 \times 10^{-3}$ М H_2O_2 -индуцированной агрегации тромбоцитов и степени колонизации *H. pylori* слизистой оболочки желудка у пациентов с хроническим гастритом

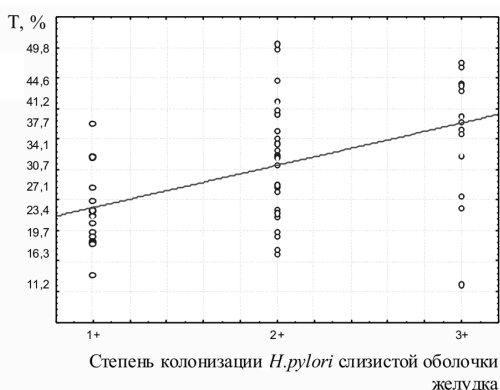


Рисунок 2 Связь степени $5,0 \times 10^{-3}$ М H_2O_2 -индуцированной дезагрегации тромбоцитов и длительности заболевания у пациентов с дуоденальной язвой

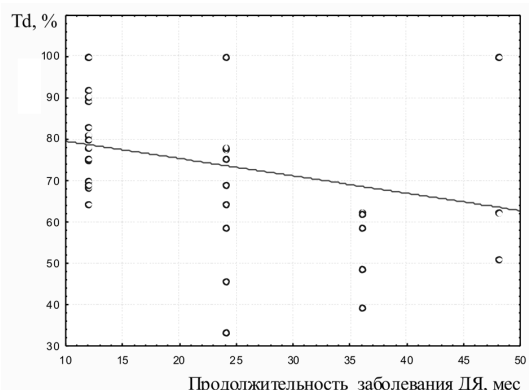


Таблица 2 Параметры агрегации и дезагрегации $5,0 \times 10^{-3}$ М H_2O_2 -индуцированной активности тромбоцитов у детей с хроническим гастритом при различной степени колонизации *Helicobacter pylori* слизистой оболочки желудка

| Показатель | Группа детей | n | Me | P25 | P75 | z (P) | |
|------------|---------------|----|-------|-------|-------|------------------|-------------------|
| | | | | | | | |
| T, % | 1+ (группа 1) | 20 | 22,90 | 18,70 | 27,40 | P ₁₋₂ | -2,281 (0,0226) |
| | 2+ (группа 2) | 25 | 32,80 | 27,50 | 39,20 | P ₁₋₃ | -4,358 (0,0001) |
| | 3+(группа 3) | 17 | 43,80 | 35,80 | 46,80 | P ₂₋₃ | -1,783 (0,0746) |
| | K | 40 | 24,20 | 22,00 | 35,30 | P _{1-K} | 0,412 (0,6492) |
| | | | | | | P _{2-K} | 1,928 (0,0540) |
| | | | | | | P _{3-K} | 4,509 (0,0001) |
| V, %/мин | | | | | | | H=5,991, P=0,1120 |
| Td, % | | | | | | | H=5,411, P=0,1441 |
| Vd, %/мин | | | | | | | H=4,033, P=0,2580 |

сти – у больных детей с ДЯ (для степени дезагрегации Td: z=-2,010, P=0,0358).

При проведении корреляционного анализа (коэффициент Спирмена r_s) степени и скорости агрегации и дезагрегации тромбоцитов у детей с ХГ с характеристиками ХГ выявлена положительная корреляционная связь умеренной степени и статистической значимости между степенью колонизации *H. pylori* слизистой желудка и степенью агрегационной активности тромбоцитов T: $r_s=0,5217$, P=0,0003 при воздействии H_2O_2 в концентрации $5,0 \times 10^{-3}$ М (рис. 1).

Установив факт связи степени агрегации тромбоцитов со степенью колонизации *H. pylori* слизистой оболочки желудка (СОЖ) у пациентов с ХГ, мы сравнили параметры агрегационного состояния $5,0 \times 10^{-3}$ М H_2O_2 -индуцированной агрегации тромбоцитов у детей с ХГ при различной степени колонизации *H. pylori* СОЖ.

Анализ изменения параметров агрегационной и дезагрегационной активности при различной степени колонизации *H. pylori* СОЖ провели с использованием критерия Краскела–Уоллиса (H). Установлена высокая значимость H для T (H=9,812, P=0,0305). Дальнейший сравнительный анализ между парными группами проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Наблюдалось статистически значимое увеличение степени агрегации между группами детей со степенью колонизации *H. pylori* СОЖ 1+ и 2+, а также между группами 1+ и 3+ (z=-2,281, P=0,0226 и z=-4,358, P=0,0001 соответственно). По мере увеличения степени колонизации *H. pylori* СОЖ до 3+ степень агрегации тромбоцитов T также остается значительно выше соответствующего показателя в контрольной группе (z=4,509, P_{3-K}=0,0001) (табл. 2).

При увеличении степени колонизации *H. pylori* СОЖ значения показателей скорости агрегации V, степени дезагрегации Td и скорости дезагрегации Vd статистически значимо не отличаются от соответствующих показателей в группе здоровых детей.

Таким образом, у детей с ХГ с увеличением степени колонизации *H. pylori* СОЖ отмечается нарушение равновесия между механизмами агрегации и дезагрегации, которое выражено в повышении степени агрегации тромбоцитов. Можно предположить, что *H. pylori* влияет на агрегационно-деагрегационные свойства тромбоцитов. Однако это влияние не приводит к цитотоксическому, деструктивному действию на тромбоциты (см. табл. 2) и, возможно, связано с высокими компенсаторно-приспособительными возможностями детского организма.

Характерная особенность агрегатограмм, полученных при действии H_2O_2 на тромбоциты, – это обратимость агрегации. Тромбоцитарные агрегаты, образовавшиеся под действием H_2O_2 в концентрации $5,0 \times 10^{-3}$ М, неустойчивые, спонтанно разрушаются, и агрегация сменяется дезагрегацией.

При проведении корреляционного анализа (коэффициент Спирмена – r_s) степени и скорости агрегации и дезагрегации тромбоцитов у детей с ДЯ с характеристиками ДЯ выявлена положительная корреляционная связь умеренной степени и статистической значимости между длительностью заболевания ДЯ у детей и степенью дезагрегационной активности тромбоцитов Td: $r_s=-0,405$, P=0,009 при воздействии H_2O_2 в концентрации $5,0 \times 10^{-3}$ М (рис. 2).

Установив факт связи степени дезагрегации тромбоцитов с дли-

тельностью заболевания ДЯ, мы сравнили параметры агрегационно-деагрегационного состояния $5,0 \times 10^{-3}$ М H_2O_2 -индуцированной активности тромбоцитов у детей с ДЯ при различной длительности заболевания.

Анализ изменения параметров агрегационной и дезагрегационной активности провели с использованием критерия Краскела–Уоллиса (H). Для этого мы сопоставили значения параметров агрегационной (T, %, V, %/мин) и дезагрегационной (Td, %, Vd, %/мин) активности тромбоцитов при ДЯ при различной длительности заболевания со значениями аналогичных параметров в контрольной группе. Установлено, что H имеет высокое значение для степени дезагрегации тромбоцитов Td (H=16,452, P=0,0105). Дальнейший сравнительный анализ между парными группами проводили с использованием критерия Манна–Уитни. Результаты представлены в табл. 3.

С увеличением длительности заболевания ДЯ отмечалось статистически значимое снижение степени дезагрегации тромбоцитов: между группами детей с длительностью заболевания 0–12 мес. и 13–24 мес. (z=3,217, P=0,0013) и между группами детей с длительностью заболевания 0–12 мес. и 25 и более месяцев (z=1,937, P=0,0430). По мере прогрессирования воспалительного процесса в двенадцатиперстной кишке степень дезагрегации тромбоцитов Td также остается значительно ниже соответствующего показателя в контрольной группе (z=-3,457, P_{2-K}=0,0005; z=-3,106, P_{3-K}=0,0019). При этом значения Vd в группах больных ДЯ с различной длительностью заболевания достоверно не отличаются между группами и от соответствующих значений в контрольной группе.

Следовательно, по мере прогрессирования воспалительных процессов в двенадцатиперстной кишке у детей достоверно снижается степень дезагрегации тромбоцитов на фоне неизменных показателей степени, скорости агрегации и скорости дезагрегации тромбоцитов.

Таким образом, у детей с ДЯ с увеличением длительности заболевания нарушается равновесие между механизмами агрегации и дезагрегации, которое выражается в снижении степени дезагрегации тромбоцитов. Можно предположить, что длительность заболевания ДЯ влияет на агрегационно-деагрегационные свойства тромбоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лойко, Е.Н. Ингибиторный анализ H₂O₂-индуцированной агрегации тромбоцитов / Е.Н.Лойко, А.Б.Самаль // Молекулярно-клеточные основы функционирования биосистем: м-лы III съезда Белорусского общественного объединения фотобиологов и биофизиков, Минск, 21–23 окт. 1998 г. / Ин-т фотобиологии НАН Беларуси. – Минск, 1998. – С.121.
2. Лойко, Е.Н. Влияние H₂O₂ на внутриклеточную концентрацию ионов кальция тромбоцитов / Е.Н.Лойко, А.Б.Самаль // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: м-лы 5-го съезда Белор.обществ. объединения фотобиологов и биофизиков, Минск, 22–24 окт. 2002 г. / Ин-т фотобиологии НАН Беларуси. – Минск, 2002. – С.Т–77.
3. Самаль, А.Б. Перекись водорода в регуляции функциональной активности тромбоцитов / А.Б.Самаль, Е.Н.Лойко // Кислород и свободные радикалы: м-лы междунар. симпоз., Гродно, Беларусь, 19–22 ноября 1996 г. / Гродн. гос. мед. ин-т. Ин-т биохимии НАН Беларуси. – Гродно, 1996. – С.91–93.
4. Drumm, B. *Helicobacter pylori* infection in children: A consensus statement / B.Drumm, S.Koletzko, G.Oderda // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 2000. – N30. – P.207–213.
5. *Helicobacter pylori* urease activates blood platelets through a lipoxygenase-mediated pathway / G.E.Wassermann [et al.] // J. Cell Mol. Med. – 2010. – Vol.14, N7. – P.2025–2034.
6. Medical Position Paper: The North American Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition: *Helicobacter pylori* infection in children: Recommendations for diagnosis and treatment / B.Gold [et al.] // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 2000. – N31. – P.490–497.
7. Prostacyclin and sodium nitroprusside inhibit the activity of the platelet inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and promote its phosphorylation / L.Cavallini [et al.] // J. Biol. Chem. – 1996. – Vol.271, N10. – P.5545–5551.
8. Platelet aggregation in children with *Helicobacter pylori* infection / O.Gursel [et al.] // Clin. Appl. Thromb. Hemost. – 2010. – Vol.16, N6. – P.637–642.

Поступила 19.09.2012 г.

| Таблица 3. Параметры дезагрегации 5,0×10 ⁻³ М H ₂ O ₂ -индуцированной активности тромбоцитов у детей с дуоденальной язвой при различной длительности заболевания | | | | | | |
|---|--------------------|----|-------|-------|-------|----------------------------------|
| Показатель | Длительность, мес. | n | Me | P25 | P75 | z (P) критерия Манна–Уитни |
| T, % | | | | | | H=1,728, P=0,6812 |
| V, %/мин | | | | | | H=1,436, P=0,8212 |
| Td, % | 0–12 (группа 1) | 19 | 76,80 | 69,90 | 82,90 | P ₁₋₂ 3,217 (0,0013) |
| | 13–24 (группа 2) | 10 | 52,10 | 33,30 | 64,50 | P ₁₋₃ 1,937 (0,0430) |
| | 25+ (группа 3) | 12 | 58,60 | 48,80 | 62,20 | P ₂₋₃ -0,146 (0,8836) |
| | K | 40 | 82,57 | 73,94 | 91,36 | P _{1-к} -0,402 (0,8551) |
| | | | | | | P _{2-к} -3,457(0,0005) |
| | | | | | | P _{3-к} -3,106 (0,0019) |
| Vd, %/мин | | | | | | H=1,042, P=0,9218 |

При анализе результатов исследования мы предположили, что значение степени агрегации T и дезагрегации Td тромбоцитов у детей при H₂O₂-индуцированной агрегации тромбоцитов можно использовать в качестве маркеров, позволяющих отбирать для эндоскопии детей с инфекцией *H. pylori* и с синдромом желудочной диспепсии.

Выводы:

1. У детей пубертатного периода с хроническим гастритом, ассоциированным с *H. pylori*, агрегационная активность тромбоцитов, индуцированная H₂O₂ в концентрации 5,0×10⁻³ М, сопряжена со степенью колонизации *H. pylori* слизистой оболочки желудка: при увеличении

степени колонизации *H. pylori* степень T агрегации тромбоцитов увеличивается (r_s=0,522, P=0,0003)

2. При *H. pylori*-ассоциированной дуоденальной язве у детей пубертатного периода степень дезагрегационной активности тромбоцитов, индуцированной H₂O₂ в концентрации 5,0×10⁻³ М, снижена и сопряжена с длительностью анамнеза заболевания (r_s=-0,405, P=0,009).

3. Определение степени 5,0×10⁻³ М H₂O₂-индуцированной агрегации и дезагрегации тромбоцитов у *H. pylori*-инфицированных детей пубертатного возраста можно использовать как дополнительные маркеры для эндоскопического исследования.

Сочетанная анестезия при радикальных вмешательствах по поводу колоректального рака у больных с гипертонической и ишемической болезнью сердца

Тхоревский А.В.

Главный военно-медицинский клинический центр «ГВКГ» Министерства обороны Украины, Киев

Thorevsky O.V.

The Main Military Clinical Hospital of Ukrainian Defense Ministry, Kyiv

Combine anaesthetic providing at surgical treatment of colorectal cancer for patients with hypertensive and ischemic illness

Резюме. Показано, что сочетанное применение общей анестезии и эпидуральной анальгезии при радикальных вмешательствах по поводу колоректального рака обеспечивает достаточную защиту у возрастных пациентов с наличием выраженной сопутствующей кардиологической патологии.
Ключевые слова: сочетанная анестезия, колоректальный рак, эпидуральная анальгезия, гипертоническая и ишемическая болезнь сердца.

Медицинские новости. – 2013. – №8. – С.66–69.

Summary. It has been demonstrated that combined use of GA and epidural analgesia provides sufficient protection in onco-rectal surgery in aged patients with co-existing severe diseases.

Keywords: combined anaesthesia, rectal cancer, segmental level of epidural analgesia, patients with ischemic heart disease and hypertension.

Meditsinskie novosti. – 2013. – N8. – P.66–69.