

## **ПОРУШЕННЯ В ТРОМБОЦИТАРНІЙ ЛАНЦІ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ГЕПАТИТ В**

Є.В. Нікітін, Т.В. Чабан, В.А. Гудзь  
Одеський державний медичний університет

*Ключові слова:* гострий гепатит В, гемостаз.

## **Нарушения в тромбоцитарном звене гемостаза больных острым гепатитом В**

Е.В. Никитин, Т.В. Чабан, В.А. Гудзь

Обследовано 90 больных острым гепатитом В с различной тяжестью течения болезни. В сыворотке крови и эритроцитах больных изучали концентрацию диеновых конъюгатов и малонового диальдегида. Исследовали показатели тромбоцитарного звена гемостаза: количество тромбоцитов, степень и время агрегации тромбоцитов. Установлено уменьшение количества тромбоцитов, повышение степени и удлинение времени агрегации тромбоцитов в первые дни желтушного периода.

*Ключевые слова:* острый гепатит В, гемостаз.

## **Disturbens in hemostasis trombocytes chain at acute hepatitis B patients**

E.V. Nikitin, T.V. Chaban, V.A. Gudz`

90 patients with different forms of acute hepatitis B were examined. Concentration of dienic conjugates and malonic dialdehyde were investigated in patients' serum and erythrocytes. Indexes of hemostasis trombocytes chain were studied: trombocytes' number, degree and time of trombocytes' aggregation. Decreasing of trombocytes' number, increasing of degree and prolongation of time of trombocytes' aggregation were found.

*Keywords:* chronic hepatitis B, hemostasis.

Вивчення адаптаційних механізмів організму, спрямованих на підтримку гомеостазу на молекулярному рівні, привертає увагу вчених в останні десятиріччя. Одне з центральних місць займає концепція, згідно якої посилення вільнорадикального окислення (ВРО), під

впливом несприятливих факторів, призводить до розвитку відповідної реакції антиоксидантної системи (АОС) [1, 2, 3, 4].

Нині не викликає сумніву фізіологічне значення та патогенетична роль ВРО ліпідів при багатьох захворюваннях, в тому числі і при ві-

русних гепатитах. Переконливо доведено, що центральною ланкою в механізмах ушкодження печінкової паренхіми при її вірусному ураженні є висока інтенсивність реакцій перекисного окислення ліпідів (ПОЛ). Реалізації токсичної дії вільних радикалів та перекисних сполук перешкоджає складна багатокомпонентна АОС. Рівень ПОЛ залежить не лише від інтенсивності утворення вільних радикалів, але і від функціональної достатності АОС [2, 5, 6, 7, 8].

Під час виникнення різних критичних станів має місце сполучена дія різних етіологічних та патогенетичних факторів, що відповідають за розвиток ДВЗ-синдрому. Реоксигенація та рециркуляція в організмі після порушення системного кровообігу (тривала гіпотензія, асистолія), або тяжка гіпоксія, призводять до нових патофізіологічних змін, важливе місце серед яких займає дисфункція системи регуляції агрегатного стану крові [9, 10, 11].

Печінка – орган, в якому здійснюється синтез більшості прокоагулянтів та антикоагулянтів, утилізація “відпрацьованих” тромбогенних білків. У печінці синтезуються частково або повністю фібриноген, фактор V, XI та XIII. Печінка впливає на гемокоагуляцію не лише шляхом забезпечення біосинтезу ряду факторів зсідання, але і через їх метаболізацію. Встановлено, що в клітинах Купфера метаболізується близько 30% циркулюючого фібриногену. Експериментальне виключення печінки з кровообігу призводить до

тривалого підвищення тромбогенного потенціалу крові – масивного та поширеного тромбоутворення. В зв'язку з цим цілком зрозуміло, що захворювання печінки призводить до порушень гемокоагуляції [9, 10].

Роботами вітчизняних та закордонних дослідників встановлено, що в осіб, які страждають на захворювання печінки, виникає геморагічний або тромбогеморагічний синдром. Розшифрування патофізіологічних механізмів зсувів в різних ланках системи гемостазу у таких хворих дозволить своєчасно виявляти порушення та призначати раціональну терапію [8, 9, 10].

Проте, сьогодні нема єдиної концепції що до генезу зсувів в системі гемостазу. До того ж не існує однозначного пояснення виявлених порушень.

Таким чином, досьогодні не знайдено надійних методів, які б дозволяли прогнозувати розвиток гострої печінкової енцефалопатії на її перших доклінічних етапах. Своєчасне розпізнавання такого грізного ускладнення сприяє своєчасному призначенню адекватної терапії, що дозволить рятувати життя хворого. Також не вивченими залишаються пускові механізми розвитку порушень в системі гемостазу при гострому гепатиті В. Знання таких механізмів дозволить розширити уявлення про патогенез гострого гепатиту В (ГГВ), особливо фульмінантних форм хвороби, використовувати ефективні, патогенетично обґрунтовані лікарські засоби.

## **Матеріали і методи дослідження**

Під спостереженням перебувало 90 хворих на ГГВ, які лікувалися в Одеській міській клінічній інфекційній лікарні. Серед обстежених було 48 чоловіків та 42 жінки віком від 18 до 50 років.

Діагноз ГГВ встановлювали на підставі епідеміологічних, клінічних, загальноприйнятих біохімічних показників, остаточно підтверджували виявленням в крові хворих маркерів ГГВ: HBsAg, anti-HBc IgM, HBeAg, anti-HBe, DNA HBV.

В результаті обстеження хворих поділили на три групи:

I група – хворі з легким перебігом ГГВ.

II група – хворі з середньоважким перебігом ГГВ.

III група – хворі з важким перебігом ГГВ.

Стан процесів ПОЛ та тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих на ГГВ досліджували тричі: під час госпіталізації, на 15-й день періоду жовтяниці та в період ранньої реконвалесценції обстежених.

Концентрацію продуктів ПОЛ вивчали в сироватці крові та еритроцитах. Для визначення вмісту дієнових кон'югатів (ДК) використовували метод І.Д. Стальної, маломовного діальдегіду (МДА) – метод І.Д. Стальної та Т.Г. Гаришвілі.

Кількість тромбоцитів визначали за допомогою фазово-контрастної мікроскопії. Агрегацію тромбоцитів в цільній крові досліджували за методом, описаним В.П. Балуде та співавт. Для оцінки здатності крові до

агрегації тромбоцитів визначали наступні показники: ступінь агрегації тромбоцитів та час максимального ступеня агрегації тромбоцитів.

Контрольну групу склали 30 здорових осіб.

Статистичну обробку одержаних результатів здійснювали на персональному комп'ютері Intel Celeron 2300 за допомогою програм Microsoft Office 2000, Statistica + for Windows. Бази даних формували в таблицях Microsoft Excel.

## **Результати дослідження та їх обговорення.**

В результаті проведених досліджень встановлено, що збільшення вмісту ДК в еритроцитах та сироватці крові хворих відбувалося вже при легкому перебігу ГГВ на початку жовтяничного періоду. Період розпалу хвороби супроводжувався деяким зменшенням кількості ДК у таких хворих. Повністю цей показник нормалізувався лише перед виписуванням із стаціонару (табл. 1).

У хворих з середньоважкою формою ГГВ спостерігалось суттєвіше зростання кількості ДК і в еритроцитах, і в сироватці крові на початку жовтяниці. Так, в еритроцитах крові цей показник збільшувався в 1,4, а в сироватці – в 1,5 разів, порівняно з показниками в здорових обстежених ( $p < 0,05$ ). Подальше прогресування хвороби супроводжувалося зростанням концентрації ДК і в еритроцитах, і в сироватці крові хворих II групи ( $p < 0,05$ ). Перед виписуванням із стаціонару вміст ДК в досліджених субстратах зменшувався, але повної нормалізації не спостерігалось.

Таблиця 1

**Концентрація ДК та МДА в еритроцитах та сироватці крові хворих на ГГВ в залежності від ступеня важкості та періоду хвороби (M±m)**

Період хвороби	ДК		МДА	
	нмоль/л зависі еритроцитів	нмоль/л сироватки	нмоль/л зависі еритроцитів	нмоль/л сироватки
Легкий перебіг (n=30)				
Початок хвороби	5,3 ± 0,12*	14,5 ± 1,46*	173,5 ± 18,79*	297,3 ± 11,27*
Період розпалу	5,1 ± 0,09*	13,2 ± 0,6*	159,8 ± 6,63*	265,0 ± 8,69*
Рання реконвалесценція	4,9 ± 0,07	12,1 ± 0,5*	148,1 ± 4,58	250,3 ± 8,7
Середньоважкий перебіг (n=30)				
Початок хвороби	6,7 ± 0,22*	16,9 ± 0,49*	231,8 ± 10,48*	457,6 ± 14,35*
Період розпалу	9,07 ± 0,16*	18,7 ± 0,31*	281,3 ± 7,12*	504,7 ± 12,29*
Рання реконвалесценція	5,63 ± 0,18*	13,5 ± 0,54*	174,4 ± 8,56*	311,5 ± 12,84*
Важкий перебіг (n=30)				
Початок хвороби	14,9 ± 0,26*	21,3 ± 1,94	260,4 ± 11,6*	442,9 ± 9,24*
Період розпалу	15,8 ± 1,23*	38,3 ± 2,6*	401,9 ± 11,94*	707,6 ± 14,96*
Рання реконвалесценція	7,6 ± 0,65*	16,5 ± 1,41*	206,5 ± 8,15*	369,1 ± 10,24*
Практично здорові (n=30)	4,8 ± 0,07	11,4 ± 0,32	145,2 ± 4,06	242,4 ± 4,73

\* вірогідна різниця в порівнянні з показниками здорових осіб (p<0,05)

Найбільші зміни спостерігалися при дослідженні концентрації ДК у хворих з важким перебігом ГГВ. Кількість ДК у таких хворих під час госпіталізації збільшувалась у 3 рази в еритроцитах та в 1,9 рази в сироватці крові, в порівнянні з фізіологічними величинами (p<0,05). На 15-й день від початку жовтяниці відбувалося значне зростання вмісту ДК (в 3,3 разів в еритроцитах та в 3,4 разів у сироватці крові).

Поступове збільшення концентрації ДК супроводжувалося про-

гресуванням хвороби в III групі спостереження (у 19 хворих на час дослідження концентрація загального білірубіну досягла максимальних значень). Хворі відмічали слабкість, зниження або відсутність апетиту, частина з них скаржилася на періодичне запаморочення, нудоту. При об'єктивному обстеженні у частини хворих спостерігали помірну тахікардію (19 хворих), глухість серцевих тонів та зниження артеріального тиску (23 хворих). У 23 хворих була гепатомегалія, у 7 – гепатоспленоме-

галія, у 21 – помірно здуття живота, зниження перистальтики кишечника, у 3 хворих відмічено зменшення діурезу.

Як видно з таблиці 1, концентрація МДА в еритроцитах та сироватці хворих на ГГВ також мала суттєві зміни, що залежали від періоду та важкості гепатиту. Так, в еритроцитах і в сироватці крові хворих з легким перебігом ГГВ на початку хвороби встановлено статистично вірогідне підвищення концентрації МДА. Зменшення інтенсивності жовтяниці супроводжувалося зниженням вмісту МДА. А на час виписування хворих I групи із стаціонару вміст цього продукту ПОЛ відповідав значенням, отриманим у здорових осіб.

У хворих з середньоважким перебігом ГГВ високі цифри МДА (табл. 1) зареєстровані вже на початку хвороби, коли спостерігалися виражені ознаки інтоксикації, диспепсичні розлади, відбувалося зростання жовтяниці. На 15 день періоду жовтяниці концентрація МДА підвищувалася в 1,7 разів в еритроцитах та в 2 рази в сироватці крові, порівняно з фізіологічними величинами. В період ранньої реконвалесценції концентрація МДА в крові хворих залишалася ще на підвищеному рівні ( $p < 0,05$ ).

Максимальні цифри МДА ( $401,9 \pm 11,94$  нмоль/л завсі еритроцитів та  $707,6 \pm 14,96$  нмоль/л сироватки) виявлені у хворих III групи спостереження у період розпаду клінічних проявів хвороби. В період реконвалесценції вміст МДА в 1,4 рази в

еритроцитах та в 1,5 разів в сироватці крові перевищував відповідні показники у здорових обстежених ( $p < 0,05$ ).

Отже, значна інтенсифікація ПОЛ відбувається в умовах розвитку важких форм ГГВ в період розпаду хвороби та співпадає з клінічно вираженими ознаками інтоксикації, високими цифрами загального білірубіну, значною активністю амінотрансфераз, що свідчить про порушення структури та функції гепатоцитів.

У хворих на ГГВ також досліджували тромбоцитарну ланку гемостазу.

Дані, наведені в таблиці 2, свідчать про зниження загальної кількості тромбоцитів у хворих із середньоважким та важким перебігом ГГВ. Так, вже на початку розвитку хвороби відмічено зменшення цього показника (в 1,2 рази у хворих із середньоважким та в 1,7 разів у хворих із важким перебігом гепатиту), порівняно з фізіологічним показником ( $p < 0,05$ ). В період розпаду середнє число тромбоцитів підвищувалося в обох групах спостереження, в порівнянні з відповідними первинними значеннями. Але отримані результати були значно нижчі, ніж у практично здорових ( $p < 0,05$ ). Якщо на момент виписування із стаціонару у хворих із середньоважкою формою ГГВ відмічали тенденцію до нормалізації кількості тромбоцитів, то при важкій формі цей показник був значно нижчий, ніж у здорових обстежених ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 2

**Стан тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих на ГГВ  
в залежності від періоду та важкості перебігу хвороби (M±m)**

Показники	Практично здорові	Хворі на ГГВ		
		Початок хвороби	Період розпалу	Рання реконвалесценція
Легкий перебіг				
Кількість тромбоцитів, 10 <sup>9</sup> /л	260,4 ± 11,87	243,8 ± 10,51	251,2 ± 9,32	262,5 ± 10,67
Ступінь агрегації, %	65,1 ± 2,41	69,75 ± 3,29	43,98 ± 2,64*	64,2 ± 3,86
Час агрегації, сек	303,6 ± 10,27	319,5 ± 8,79	263,2 ± 9,15*	289,7 ± 8,06
Середньотяжкий перебіг				
Кількість тромбоцитів, 10 <sup>9</sup> /л		216,9 ± 7,43*	229,2 ± 10,72*	250,6 ± 11,58*
Ступінь агрегації, %		71,6 ± 2,94*	30,7 ± 2,53*	49,5 ± 2,36*
Час агрегації, сек		284,2 ± 8,19*	353,4 ± 10,68*	326,8 ± 11,04*
Тяжкий перебіг				
Кількість тромбоцитів, 10 <sup>9</sup> /л		149,9 ± 6,27*	194,8 ± 9,42*	223,4 ± 9,73*
Ступінь агрегації, %		77,3 ± 5,8*	22,1 ± 2,74*	40,6 ± 3,62*
Час агрегації, сек		247,3 ± 10,43*	374,5 ± 9,37*	275,7 ± 7,18*

\* вірогідна різниця в порівнянні з показниками здорових осіб (p<0,05)

Поряд із зниженням кількості тромбоцитів спостерігалися значні зміни їх функціонального стану. Так, на початку періоду жовтяниці (табл. 2) у всіх обстежених хворих встановлено збільшення ступеня

агрегації тромбоцитів. Проте, у разі розвитку середньоважкої та важкої форми хвороби агрегація тромбоцитів зростала. Паралельно із підвищенням ступеня агрегації, у хворих цих груп спостереження зафіксувало

скорочення часу агрегації (у пацієнтів з легким перебігом ГГВ показник часу агрегації знаходився в межах фізіологічних величин).

Таким чином, отримані дані свідчать про підвищення агрегаційних властивостей тромбоцитів, що може відповідати, на наш погляд, розвитку першої фази ДВЗ-синдрому (фаза гіперкоагуляції) вже на початковому етапі хвороби.

У період розпаду ГГВ встановлено статистично достовірне зниження агрегаційної активності тромбоцитів (зменшення ступеня та зміни часу агрегації). Виразність таких зсувів була різною (табл. 2) та чітко залежала від важкості хвороби. Найнижчий показник ступеня агрегації тромбоцитів ( $22,1 \pm 2,74\%$ ) зареєстровано у важкохворих, що в 2,9 рази менше, ніж у практично здорових ( $p < 0,05$ ). У хворих з легким перебігом ГГВ кратність зниження ступеня агрегації тромбоцитів складала 1,5, а у хворих з середньоважким перебігом ГГВ – 2,1, в порівнянні з відповідною фізіологічною величиною ( $p < 0,05$ ).

Таке зниження ступеня агрегації тромбоцитів, разом із зменшенням загальної кількості тромбоцитів, свідчить, на наш погляд, про виникнення другої (перехідної) фази ДВЗ-синдрому, яка характеризується коагулопатією, тромбоцитопенією та іншими змінами з боку системи зсідання крові.

В період ранньої реконвалесценції лише у пацієнтів з легкою формою хвороби спостерігали відновлення показника ступеня агрегації тромбоцитів.

Привертає до себе увагу різноспрямованість динаміки показника тривалості часу агрегації тромбоцитів у хворих різних груп спостереження. Незначне подовження часу агрегації на початку жовтяниці у хворих з легким перебігом ГГВ змінювалося достовірним його зменшенням у період розпаду та відновленням (разом із числом тромбоцитів та ступенем агрегації тромбоцитів) на момент виписування хворих із стаціонару. Такі зміни свідчать про те, що можливості організму таких пацієнтів є адекватними до зсувів, що розвиваються, та здатними повністю їх компенсувати.

Інша картина спостерігалася у пацієнтів з середньоважкою формою ГГВ (табл. 2). Якщо в перші дні хвороби спостерігали скорочення терміну агрегації тромбоцитів, то на 15 день встановлювали його достовірне подовження (в 1,2 рази порівняно з показником у практично здорових). В період ранньої реконвалесценції показник часу агрегації тромбоцитів наближався до фізіологічної величини.

Описані зміни свідчать, що компенсаторні механізми організму хворих є недостатніми для підтримки рівноваги в системі гемостазу.

Найкоротший час агрегації зафіксовано у важкохворих на початку ГГВ ( $247,3 \pm 10,43$  сек). В періоді розпаду хвороби цей показник значно збільшувався (в 1,5 рази, в порівнянні з первинним значенням) та знову зменшувався перед виписуванням із стаціонару. На наш погляд, такий процес можна трактувати як наяв-

ність глибоких негативних змін у мембранах тромбоцитів, їх фосфоліпідному прошарку.

Клінічно у хворих цієї групи спостерігали кровотечі різної локалізації та інтенсивності, синці в місцях ін'єкцій або тривалу кровоточивість при проведенні внутрішньовенних маніпуляцій.

Шляхом статистичної обробки отриманих результатів встановлено наявність кореляційних зв'язків між кількістю ДК у сироватці крові та концентрацією загального білірубину в період розпалу хвороби. Коефіцієнт кореляції становить 0,993. Існує також прямий кореляційний зв'язок між вмістом МДА та загального білірубину у сироватці крові ( $r=0,993$ ), сила зв'язку розцінена як виражена. Також встановлено виражений кореляційний зв'язок між вмістом ДК та активністю АлАТ ( $r=0,773$ ) та між вмістом МДА та активністю АлАТ ( $r=0,843$ ), що свідчить, на нашу думку, про безпосередню участь процесів ПОЛ у механізмах деструкції гепатоцитів.

Існує взаємозв'язок між змінами з боку агрегаційної функції тромбоцитів та кількістю кінцевого продукту пероксидації ліпідів – МДА. Так, на самому початку хвороби кореляційний зв'язок між вмістом МДА та ступенем агрегації тромбоцитів є прямим вираженням ( $r=0,993$ ), між вмістом МДА і часом агрегації тромбоцитів - зворотним ( $r=-0,843$ ). У період розпалу ГГВ кореляційний зв'язок між вмістом МДА та ступенем агрегації тромбоцитів є зворотним ( $r=-0,823$ ), а між вмістом МДА і

часом агрегації тромбоцитів прямим вираженням ( $r=0,833$ ). Це дозволяє припустити, що активація агрегаційної функції тромбоцитів у хворих на ГГВ здійснюється через вплив ВРО на фосфоліпіди мембран тромбоцитів. У період розпалу ГГВ збільшення концентрації МДА супроводжується зменшенням ступеня агрегації тромбоцитів при одночасному подовженні терміну їх агрегації.

На наш погляд, надлишкова кількість продуктів ВРО токсично впливає на фосфоліпідний склад мембран тромбоцитів, а це призводить до активації тромбоцитарної функції на початку хвороби. Посилена агрегація тромбоцитів, разом із скороченням періоду агрегації, сприяє розвитку мікротромбозів, посиленню процесів зсідання крові за типом ланцюгової реакції. Тривалість такого стану в кожному конкретному випадку може бути лімітованою ємністю факторів зсідання крові. Подальше зниження агрегаційної здатності тромбоцитів та подовження часу їх агрегації може бути розцінено як результат виснаження фосфоліпідних тромбоцитарних факторів та інших компонентів системи зсідання крові і відповідає поняттю “коагулопатія споживання”.

### **Висновки.**

1. У хворих на ГГВ вже на початку жовтяниці виявлені значні порушення тромбоцитарної ланки гемостазу, що проявлялися зменшенням числа тромбоцитів, підвищенням ступеня та часу їх агрегації.

2. Встановлена кореляційна залежність між рівнем ПОЛ та показ-



никами, що характеризують стан рапії з антирадикальними властивостями, що здатні відновлювати тромбоцитарної ланки гемостазу.

3. Всім хворим на ГТВ слід призначати засоби патогенетичної терапії з антирадикальними властивостями, що здатні відновлювати тромбоцитарні порушення.

### Література

1. Гріднев О.Є. Перекисне окислення ліпідів і печінка // Сучасна гастроентерол. – 2005. - № 5. – С. 80-83.
2. Громашевська Л.Л. Метаболічна інтоксикація у патогенезі та діагностиці патологічних процесів // Лабор. діагностика. – 2006. – № 1 (35). – С. 3 – 12.
3. Никитин Е.В., Миронов В.Ю., Пясецкий Б.Н., Сервецкий К.Л. Роль перекисного окислення ліпидов и антиоксидантной системы в патогенезе хронических вирусных гепатитов: 36. наук. пр. співробітників КМАПО ім. П.Л. Шупика.– К.– 2000.– Вип.9.–Кн.4.– С.117–120.
4. Romero F.J., Bosch-Morell F., Romero M.J. et al. Lipid peroxidation products and antioxidants in human disease // Environ. Health Perspect. – 1998. – Vol. 106 (Suppl. 5). – P. 1229-1234.
5. Єлісеєва О.П., Тимочко М.Ф. та ін. Стратегія і тактика антиоксидантного захисту в клініці внутрішніх хвороб // Укр. мед. часопис. – 2003. - № 3 (35). – С. 92-99.
6. Антонова Т.В., Николаенко С.Л. Интенсивность перекисного окисления липидов мембран и метаболизм лимфоцитов у больных вирусными гепатитами // Журн. микробиологии, эпидемиол. и иммунологии. – 1998. - № 5. – С. 64-67.
7. Боброннікова Л.Р. Система ПОЛ-АОЗ за коморбідного поєднання хронічного безкам'яного холециститу та гіпертонічної хвороби // Сучасна гастроентерологія. – 2008. - № 2 (40). – С. 14-16.
8. Everett S.M., Singh R., Leuratti C. et al. Levels of malondialdehyde-deoxyguanosine in the gastric mucosa: relationship with lipid peroxidation, ascorbic acid, and Helicobacter pylori // Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. – 2001. – Vol. 10. – P. 369-376
9. Рябова С.С., Смирнов С.В., Спиридонова Т.Г. и др. Состояние гемостаза и его коррекция у обожженных с эрозивно-язвенными поражениями желудочно-кишечного тракта // Клини. лаб. диагн. – 2001. - № 6. – С. 41 - 43.
10. Волков В.И., Запровальная О.Е. Тромбоцитарный гемостаз и атерогенез: патогенетические и терапевтические аспекты // Кровообіг та гемостаз. – 2003. - № 1. – С. 18 – 25.
11. Пюрик В.Ф., Глушко Л.В., Дикий Б.М. Стан тромбоцитарно-судинного гемостазу хворих на лептоспіроз // Інфекційні хвороби. – 1998. - № 4. – С. 13 – 16.