

ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ

Осиков М.В.¹, Григорьев Т.А.², Федосов А.А.¹, Козочкин Д.А.¹, Ильиных М.А.¹

¹ ГБОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Минздрава России», Челябинск, Россия (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64), e-mail: mvo2003@list.ru;

² ГБУЗ Челябинская областная клиническая больница, Челябинск, Россия (454076, г. Челябинск, Медгородок), e-mail: aya111@mail.ru

Проведен анализ количественного состава и функциональной активности тромбоцитов в условиях дефицита эндогенного эритропоэтина (ЭПО) и при введении экзогенного ЭПО у 62 больных хронической почечной недостаточностью (ХПН), находящихся на лечении диализом в ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница». У больных ХПН наблюдается тромбоцитопения и угнетение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, активируются нитрооксидергические процессы и повышается уровень фактора фон Виллебранда в сыворотке. Угнетение агрегации тромбоцитов и повышение уровня фактора фон Виллебранда в сыворотке нарастают по мере повышения концентрации конечных стабильных метаболитов оксида азота (II). Применение экзогенного ЭПО у больных ХПН в суммарной дозе около 40000 МЕ приводит к увеличению количества тромбоцитов, тромбокрита, среднего объема тромбоцитов, восстанавливает агрегационную способность тромбоцитов, приводит к снижению уровня фактора фон Виллебранда и метаболитов оксида азота (II) в сыворотке. Увеличение скорости агрегации тромбоцитов под влиянием ЭПО нарастает по мере снижения концентрации метаболитов оксида азота (II) в сыворотке.

Ключевые слова: тромбоциты, функциональная активность, эритропоэтин, нитрооксидергические процессы, фактор фон Виллебранда.

EFFECT OF ERYTHROPOIETIN ON THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF PLATELETS

Osikov M.V.¹, Grigoryev T.A.², Fedosov A.A.¹, Kozochkin D.A.¹, Ilinykh M.A.¹

¹ "Chelyabinsk State Medical Academy of Health Ministry of Russia", Chelyabinsk, Russia (454092, Chelyabinsk, street Vorkovskogo, 64), e-mail: mvo2003@list.ru;

² Chelyabinsk Regional Hospital, Chelyabinsk, Russia (454076, Chelyabinsk, Medgorodok), e-mail: aya111@mail.ru

In 62 patients with chronic renal failure (CRF) on dialysis in Chelyabinsk Regional Hospital the analysis of the quantitative composition and platelet function in cases of endogenous erythropoietin (EPO) deficiency and the administration of exogenous EPO was conducted. Patients with chronic renal failure present thrombocytopenia and inhibition of ADP-induced platelet aggregation, activation of nitroxidergic processes and high von Willebrand factor levels in the serum. Inhibition of platelet aggregation and increase of von Willebrand factor levels in serum are observed with the increase of the concentration of the final stable metabolites of nitric oxide (II). The administration of exogenous EPO in patients with CRF in a total dose of about 40.000 IU results in the increased number of platelets, platelet crit, mean platelet volume, restores platelet aggregation capacity, lowers von Willebrand factor and nitric oxide metabolites (II) in serum. High rate of the platelet aggregation due to EPO intensifies the decrease of nitric oxide metabolites concentration (II) in serum.

Keywords: platelets, functional activity, erythropoietin, nitroxidergic processes, von Willebrand factor.

Введение

Тромбоциты активно участвуют в процессах воспаления, регенерации и репарации поврежденных тканей, реализации врожденного и адаптивного иммунитета [3]. При повреждении тканей тромбоциты являются иницилирующими клетками, так как вовлекаются в процесс в течение нескольких секунд-минут. Тромбоцитарно-эндотелиальные (адгезия) и тромбоцитарно-тромбоцитарные (агрегация) взаимодействия имеют ключевое значение в защитных реакциях организма в связи с участием в гемостазе, регуляции тонуса сосудов, процессов пролиферации и репарации. Это реализуется за счет наличия в тромбоцитах

иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA, IgE, альбумина, АДФ, гистамина, серотонина, факторов роста и других веществ. Взаимодействия тромбоцитов друг с другом, эндотелиоцитами, а также адгезивными экстрацеллюлярными белками обеспечиваются поверхностными рецепторами – мембранными гликопротеинами. Эти взаимодействия на аутокринном и паракринном уровне стимулируются тромбином, АДФ, ФАТ, тромбоксаном А₂, ингибируются – простациклином, оксидом азота (II). Для понимания фундаментальных аспектов регуляции гомеостаза и разработки перспективных направлений фармакологической коррекции привлекают интерес эндогенные регуляторы функциональной активности тромбоцитов: церулоплазмин, альфа-1-кислый гликопротеин и др., концентрация которых в плазме поддерживается на постоянном уровне в физиологических условиях и изменяется при различной патологии [1; 2]. В последние годы объектом пристального внимания исследователей биомедицинского профиля являются плеiotропные эффекты эритропоэтина (ЭПО). ЭПО отвечает за пролиферацию, дифференцировку и угнетение апоптоза в бурст- и колониобразующих единицах гранулоцитарно-моноцитарно-мегакариоцитарно-эритроцитарных, при этом главным эффектом ЭПО является снижение скорости апоптоза эритроидных клеток-предшественниц в костном мозге. Рецепторы к ЭПО обнаружены на клетках нервной ткани, яичников и яичек, матки, гладкомышечных клетках сосудов, кардиомиоцитах, эндотелиоцитах, эпителии легких и почечных канальцев [9]. Эти клетки способны не только экспрессировать рецепторы ЭПО, некоторые из них могут синтезировать ЭПО. Наличие таких потенциалов позволяет предположить, что ЭПО выполняет ряд функций, отличных от гемопоэтической. Ранее нами продемонстрированы нейропротекторные свойства ЭПО, его влияние на аффективный и психофизиологический статус, коагуляционный гемостаз, функциональное состояние эндотелиоцитов, связанные с антиапоптотическим, антигипоксическим, дезинтоксикационным и антиоксидантным действием [4–6]. Остаются малоизученными эффекты ЭПО на количество и функциональное состояние тромбоцитов периферической крови.

Цель исследования – исследовать влияние эритропоэтина на количественный состав и функциональную активность тромбоцитов периферической крови.

Материалы и методы исследования

Для реализации поставленной цели использована кровь больных людей с хронической почечной недостаточностью (ХПН) – пациентов отделения диализа ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница». ХПН является удобной моделью для исследования эффектов ЭПО, т.к. пери- и тубулярные клетки почек являются основным местом синтеза эндогенного ЭПО. При ХПН продукция эритропоэтина критически снижается, что позволяет оценивать изменения функциональной активности тромбоцитов в этих условиях, а также в

условиях введения экзогенного ЭПО. Проведено краткосрочное, открытое, проспективное клиническое исследование гемостазиологических эффектов ЭПО у больных ХПН, находящихся на гемодиализе. Первоначально обследовано 160 больных с терминальной стадией ХПН в возрасте от 22 до 72 лет (средний возраст 45,5 года), получающих гемодиализную терапию на аппаратах «Искусственная почка» 4008S/VIBAG фирмы Fresenius (Германия) 3 раза в неделю в течение 4 часов. После рандомизации в исследование включено 62 больных, из них 29 женщин и 33 мужчины. Отбор больных для исследования проводили в соответствии с критериями включения и исключения. Критерий включения: больные с терминальной стадией ХПН. Критерии исключения: 1) декомпенсация со стороны сердечно-сосудистой, дыхательной, пищеварительной систем; 2) наличие в анамнезе туберкулеза, венерических заболеваний, гепатита, ВИЧ-инфекции, онкологических заболеваний; 3) острые нарушения церебрального кровообращения; 4) острый воспалительный процесс; 5) беременность; 6) уровень гемоглобина ниже 60 г/л. Группа 1 – контроль (n=25) представлена клинически здоровыми людьми – добровольцами, не имеющими соматической патологии и сопоставимыми по возрасту и полу с основными группами. Группа 2 – больные ХПН, не принимающие ЭПО до процедуры гемодиализа (n=24). Группа 3 – больные ХПН, не принимающие ЭПО после процедуры гемодиализа (n=24). Группа 4 – больные ХПН, принимающие ЭПО до процедуры гемодиализа (n=38). Группа 5 – больные ХПН, принимающие ЭПО после процедуры гемодиализа (n=38). Кровь для исследований у больных 2–5 групп забиралась из артериального колена артерио-венозной фистулы. Больные 4 и 5 группы получали ЭПО в составе препарата «Рекормон» (МНН: эпоэтин бэта, Roche, Швейцария) 2 раза в неделю внутривенно в разовой дозе 2000-4000 МЕ в течение 2 месяцев, суммарная доза составила около 40000 МЕ. На гематологическом анализаторе фирмы Orphee (Япония) волюмометрическим методом определяли количество и ширину распределения по размеру тромбоцитов. АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов исследовали на двухканальном лазерном анализаторе LA-230 (Россия), регистрировали амплитуду (%), время (мин) и скорость агрегации (%/мин). Уровень NOx оценивали с помощью реакции Griess, результат выражали в мкмоль/л. Для определения активности фактора фон Виллебранда (vWF) использована его способность вызывать агглютинацию тромбоцитов в присутствии ристоцетина (НПО «Ренам», Москва), результат выражали в %. Статистический анализ проведен с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows 6.0. Для анализа нормальности распределения данных применяли критерий Шапиро–Уилка, проверки гипотез о равенстве генеральных дисперсий – критерий Левена. Проверку статистических гипотез проводили с использованием непараметрических критериев (U-критерий Манна–Уитни, WW

– критерий Вальда-Вольфовитца). При множественных сравнениях вводили поправку Бонферрони. Для выявления связи между параметрами использовали коэффициент корреляции Спирмена (R). Отличия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

У больных ХПН независимо от времени взятия крови – до или после процедуры диализа – в периферической крови снижается количество тромбоцитов в среднем на 50% (табл. 1).

Таблица 1 – Влияние ЭПО на количественный состав и морфологические признаки тромбоцитов периферической крови у больных ХПН, находящихся на гемодиализе (M±m)

Группы / показатели	Группа 1: здоровые (n=25)	Группа 2: ХПН до диализа (n=24)	Группа 3: ХПН после диализа (n=24)	Группа 4: ХПН+ЭПО до диализа (n=38)	Группа 5: ХПН+ЭПО после диализа (n=38)
Тромбоциты, $\cdot 10^9/л$	328,85±8,26	178,92±5,46 *	163,82±7,08 *	253,79±7,58 *#	239,94 ±8,37 *&^
Тромбокрит, %	0,19±0,01	0,14 ±0,01 *	0,13 ±0,01 *	0,20 ±0,02 #	0,21 ±0,02 &
Средний объем, фл	9,71±0,19	8,38 ±0,11 *	8,46 ±0,13 *	8,51 ±0,07 * #	7,82 ±0,14 *&^
Ширина распределения по объему	14,54±0,14	13,30 ±0,19 *	13,35 ±0,30 *	13,34 ±0,16 *	12,34 ±0,16 *&^

* – значимые различия ($p < 0,05$) с группой 1,

– с группой 2,

& – с группой 3,

^ – с группой 4.

Показатель тромбокрита, который отражает долю объема цельной крови, занимаемую тромбоцитами, также значимо снижается, в среднем на 30%. Заслуживает внимания факт уменьшения среднего объема тромбоцитов, хотя он и остается в пределах референсных значений (7 –11 фл). Показатель ширины распределения тромбоцитов по объему отражает гетерогенность популяции тромбоцитов по размерам (степень анизоцитоза), т.е. говорит о том, насколько сильно тромбоциты отличаются между собой по размерам. В норме показатель составляет 10–20%, более жесткие нормативы представлены интервалом 15–17%. Снижение ширины распределения тромбоцитов у больных ХПН указывает на гомогенность размеров тромбоцитов в периферической крови. Механизм развития тромбоцитопении может быть связан с угнетением образования тромбоцитов в костном мозге, ускорением тромбоцитодиализа при снижении продолжительности жизни или увеличении потребления кровяных пластинок в ходе тромбообразования. Снижение среднего объема тромбоцитов у

больных ХПН может свидетельствовать в пользу угнетения мегакариоцито- и/или тромбоцитопоэза, поскольку чем крупнее тромбоциты, тем они моложе. В то же время снижение молодых форм тромбоцитов может быть связано с их ускоренным разрушением в кровотоке. Известно, что недавно вышедшие в кровоток тромбоциты содержат большее количество РНК, которую можно выявить путем окраски. В группе больных ХПН, находящихся на гемодиализе, процент тромбоцитов, содержащих РНК, был достоверно снижен по сравнению с группами на перитонеальном диализе и на консервативной терапии. После процедуры диализа данный показатель снижался еще больше. Одним из механизмов усиленного тромбоцитодиэреза у больных ХПН, находящихся на постоянной гемодиализной терапии, может быть развитие аутоиммунитета и продукция антитромбоцитарных антител, связанная с применением гепарина.

Далее проведены исследования функциональной активности тромбоцитов. Известно, что одной из центральных функций тромбоцитов является их агрегация: наступающая после адгезии активация тромбоцитов завершается синтезом продуктов арахидоновой кислоты, изменением свойств мембраны и высвобождением содержимого гранул, вследствие этого кровяные пластинки могут взаимодействовать друг с другом и образовывать тромбоцитарный тромб. При нарушении активации тромбоцитов, замедлении или прекращения адгезии и агрегации, усилении дезагрегации возникают тяжелые геморрагии. В качестве индуктора агрегации была использована динатриевая соль АДФ, т.к. АДФ является основным физиологическим проагрегантным фактором. Показатели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у больных ХПН, находящихся на гемодиализе, представлены в табл. 2. У больных ХПН до процедуры гемодиализа интегральный показатель, скорость агрегации, снижается в среднем на 53,7% по сравнению с нормальными величинами в контрольной группе. Замедление скорости обусловлено укорочением процесса и снижением амплитуды агрегации, при этом вклад амплитуды (снижение в среднем на 62%) более значим, чем времени агрегации (снижение в среднем на 19%), что может рассматриваться как угнетение способности тромбоцитов к взаимодействию друг с другом с формированием трехмерных агрегатов. После процедуры гемодиализа скорость агрегации тромбоцитов еще больше замедлялась, составляя всего лишь 30% от нормальных средних значений, что было связано с преимущественным падением амплитуды процесса. Полагаем, что длительный, в течение нескольких часов контакт тромбоцитов с мембраной диализатора и поверхностью экстракорпорального контура приводит к усугублению их функциональной несостоятельности.

Таблица 2 – Влияние ЭПО на показатели агрегации тромбоцитов у больных ХПН, находящихся на гемодиализе ($M \pm m$)

Группы / показатели	Группа 1: здоровые (n=25)	Группа 2: ХПН до диализа (n=24)	Группа 3: ХПН после диализа (n=24)	Группа 4: ХПН+ЭПО до диализа (n=38)	Группа 5: ХПН+ЭПО после диализа (n=38)
Амплитуда агрегации, %	86,59±2,08	33,27±3,18 *	22,52±6,02 * #	55,77±2,70 * #	17,37±1,53 * ^
Время агрегации, мин	4,85±0,13	3,91±0,24 *	3,79±0,17 *	3,44±0,15 * #	3,38±0,19 *
Скорость агрегации, %/мин	18,24±0,69	8,44±0,55 *	5,62±1,26 * #	17,70±0,99 #	5,25±0,35 * ^

* – значимые различия ($p < 0.05$) с группой 1,

– с группой 2,

^ – с группой 4.

Установлено, что в сыворотке у больных ХПН до процедуры гемодиализа повышено содержание конечных стабильных метаболитов NO, нитритов и нитратов, в сумме в среднем на 34%, при этом наблюдается преимущественный прирост нитритов (+62%) по сравнению с нитратами (+26%) (табл. 3). После процедуры гемодиализа концентрация продуктов NO в сыворотке снижается до нормальных значений. Заслуживает внимания анализ индивидуальной реактивности у больных ХПН по показателям нитроксидергических процессов. Действительно, до процедуры гемодиализа при совокупном увеличении концентрации в сыворотке продуктов NO из 24 больных у 10 отмечена тенденция к их уменьшению, дифференцированно в большей степени это отразилось на динамике содержания стабильных нитратов (10 больных) по сравнению с нитритами (4 больных). После процедуры диализа при совокупном уменьшении концентрации в сыворотке продуктов NO из 24 больных у 8 наблюдается их увеличение, при этом увеличивалось содержание нитритов у 12 больных, нитратов – у 6 больных. Таким образом, отмечена гетерогенность содержания метаболитов оксида азота (II) в сыворотке у больных ХПН до и после процедуры гемодиализа, выраженность которой возрастает после диализной процедуры, когда у 50% больных наблюдается прирост содержания нитритов. Такие индивидуальные особенности уровня метаболитов NO могут быть обусловлены неоднозначными эффектами диализной процедуры.

Таблица 3 – Влияние ЭПО на содержание стабильных метаболитов оксида азота (II) в сыворотке и активность фактора Виллебранда в плазме у больных ХПН, находящихся на гемодиализе (M±m)

Группы / показатели	Группа 1: здоровые (n=25)	Группа 2: ХПН до диализа	Группа 3: ХПН после	Группа 4: ХПН+ЭПО до диализа	Группа 5: ХПН+ЭПО после
---------------------	---------------------------	--------------------------	---------------------	------------------------------	-------------------------

		(n=24)	диализа (n=24)	(n=38)	диализа (n=38)
NO _x ⁻ , МКМОЛЬ/Л	14,68±0,85	19,72±1,53 *	12,14±0,63	16,77±1,02 #	14,37±0,72
NO ₂ ⁻ , МКМОЛЬ/Л	3,01±0,22	4,89±0,32 *	3,15±0,19	4,20±0,34 * #	3,41±0,24
NO ₃ ⁻ , МКМОЛЬ/Л	11,71±0,81	14,78±1,36 *	9,49 ±0,68	12,57 ±0,82 #	10,96 ±0,68
Активность vWF, %	114,46±5,68	165,00±3,41*	166,25±4,01 *	151,74±5,05 *#	162,11±2,93 *

* – значимые различия (p<0.05) с группой 1,

– с группой 2.

У больных ХПН повышена активность фактора фон Виллебранда в плазме, процедура гемодиализа не оказывает значимого влияния на этот показатель (табл. 3). Механизм повышения активности фактора Виллебранда остается не вполне ясным, возможно, это компенсаторный ответ на снижение функциональной способности тромбоцитов. Установлено, что активность vWF значимо нарастает по мере увеличения концентрации продуктов NO_x в сыворотке, связь между показателями сильная, положительная (R=0,75; p<0,05). Данный факт может быть связан с тем, что пероксинитрит (ONOO⁻), образующийся из оксида азота (II) в условиях оксидативного стресса при уремии, напрямую повышает экспрессию фактора Вилебранда, а также тромбомодулина, P- и E-селектина, ICAM-1, VCAM-1, различных факторов роста и хемокинов через активацию оксидантчувствительного фактора транскрипции NF-κB в эндотелиоцитах.

Применение ЭПО у больных ХПН приводит к увеличению тромбоцита, количества тромбоцитов, среднего объема тромбоцитов (табл. 1). Механизм влияния ЭПО на количество тромбоцитов в кровотоке может быть связан с несколькими факторами. Во-первых, нельзя исключить прямой тромбоцитопоэтический эффект ЭПО, реализуемый на уровне мегакариоцитопоэза и/или тромбоцитопоэза. ЭПО отвечает за пролиферацию, дифференцировку и угнетение апоптоза, в том числе в колониеобразующих единицах гранулоцитарно-моноцитарно-мегакариоцитарно-эритроцитарных, т.е. оказывает свой эффект не только на предшественников эритроидного, но и мегакариоцитарного ряда. Нельзя исключить также известные антиапоптотические эффекты ЭПО, реализуемые на уровне мегакариоцитарного роста. В пользу данного предположения свидетельствует увеличение среднего объема тромбоцитов, циркулирующих в кровотоке у больных ХПН. На модели трансгенных мышей с «выключением» гена ЭПО была установлена роль внутриклеточных путей сигнализации в мегакариоците, инициируемых ЭПО [7]. Кроме того, возможен косвенный тромбоцитопоэтический эффект ЭПО, осуществляемый через коррекцию анемии

и улучшение кислородобеспечения костного мозга. Во-вторых, увеличение количества тромбоцитов под влиянием ЭПО может быть связано с уменьшением скорости и интенсивности тромбоцитодиэреза, возможно, за счет снижения выраженности азотемии, нормализации процессов свободно-радикального окисления. Однако для подтверждения последнего предположения требуется проведение дополнительных исследований. Снижение количества тромбоцитов, их объема и степени анизоцитоза после диализа подтверждает факт негативной селекции молодых форм тромбоцитов при контакте с диализной мембраной. Дело в том, что активирующее воздействие диализатора на тромбоциты приводит к элиминации из кровотока наиболее активных и функционально полноценных клеток.

На следующем этапе нами проведено исследование влияния ЭПО на функциональную активность тромбоцитов у больных ХПН. Установлено, что ЭПО значительно изменяет показатели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (табл. 2). До процедуры гемодиализа скорость агрегации тромбоцитов повышается и достигает значений здоровых людей, ускорение агрегации обусловлено преимущественным увеличением амплитуды, а не укорочением процесса. После гемодиализа скорость агрегации тромбоцитов вновь падает и не отличается от значений в группе больных ХПН, не принимающих ЭПО; по всей видимости, этот факт является дополнительным подтверждением негативной селекции функционально полноценных тромбоцитов в ходе процедуры диализа.

Можно предположить, что ЭПО обладает прямым действием на тромбоциты. Вероятно, на поверхности тромбоцитов экспрессируются рецепторы к ЭПО, опосредующие изменение функциональной активности этих клеток. В пользу данного предположения свидетельствуют результаты недавних исследований у интактных крыс и мышей эффектов ЭПО и его карбамилированного производного (СЕРО), не способного связываться с рецепторами ЭПО в гемопоэтической ткани [8]. В частности, было показано, что ЭПО, но не СЕРО увеличивает средний объем тромбоцитов и тромбокрит, повышает аффинитет тромбиновых рецепторов на тромбоцитах, ускоряет коллаген и АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов и повышает количество плазменного Р-селектина. Известно, что в тромбоцитах при уремии нарушена Ca^{2+} -зависимая внутриклеточная сигнализация из-за дефектов в структуре цитоплазматической мембраны и мембран тромбоцитарных гранул, изменяющих поглощение и депонирование этого иона. В свою очередь, кальций играет важную роль в реализации функции тромбоцитов.

Применение ЭПО приводит к восстановлению активности нитроксидергических процессов, оцениваемых по содержанию конечных стабильных метаболитов оксида азота (II) в сыворотке (табл. 3). Общее количество продуктов NO снижается преимущественно за счет нитратов, концентрация нитритов также снижается, но все-таки остается выше, чем в

контрольной группе. Процедура гемодиализа не оказывает значимого влияния на выраженность нитроксидазических процессов, т.к. после гемодиализа уровень метаболитов NO не изменяется. Отметим, что наблюдается тенденция к снижению концентрации метаболитов оксида азота (II) после диализа, что может быть связано с удалением этих низкомолекулярных метаболитов в ходе процедуры гемодиализа. Применение ЭПО приводит к изменению уровня активности фактора фон Виллебранда в крови у больных ХПН, находящихся на гемодиализе (табл. 3). Активность vWF до процедуры гемодиализа снижается, но остается выше, чем в группе здоровых людей. После гемодиализа активность vWF в крови значимо не изменяется.

Восстановление функциональной активности эндотелиоцитов у больных ХПН может иметь принципиальное значение в ограничении окислительного напряжения в организме, цитодеструкции и восстановлении функциональной активности тромбоцитов. Показано, что увеличение скорости агрегации тромбоцитов под влиянием ЭПО нарастает по мере снижения общего количества стабильных метаболитов NO ($R=-0,82$ $p<0,05$). Причем значимая связь обнаружена только для нитратов ($R=-0,29$ $p>0,05$), но не нитритов ($R=-0,89$ $p<0,05$). Полагаем, что ЭПО обладает способностью напрямую вмешиваться в метаболизм эндотелиоцитов. О лиганд-рецепторных взаимодействиях ЭПО и эндотелиоцитов свидетельствует факт наличия на поверхности каждой эндотелиальной клетки порядка 27000 рецепторов для ЭПО. ЭПО оказывает митогенный и хемотактический эффект на эндотелий, что, вероятно, отражает его способность вызывать неоангиогенез, сравнимый с таковым у фактора роста эндотелия. Показано, что внутривенное введение ЭПО в дозе 100–500 ЕД/кг здоровым людям вызывает прямую активацию эндотелия на основании значимого прироста уровня Е-селектина более чем на 100%, а Р-селектина и VCAM-1 – на 50%.

Большинство работ по эндотелиотропным эффектам ЭПО посвящено кардиопротекции. В то же время показано, что протекторное действие ЭПО при экспериментальном синдроме ишемии-реперфузии в миокарде реализуется за счет его эндотелиотропных эффектов, в частности через внутриклеточные сигнальные пути, опосредованные фосфоинозитид-3-киназой (PI3K) / протеинкиназой В и митоген-активированной протеинкиназой (MEK) ЭПО вмешивается в регуляцию активности NOS и продукцию оксида азота (II). Причем при реперфузионной модели повреждения миокарда синтез NO возрастает, однако ЭПО выступает в роли не стимулятора, а именно регулятора его образования. Указывается, что ЭПО способен подавлять экспрессию eNOS в эндотелиоцитах, уменьшая тем самым продукцию NO, и одновременно стимулирует пролиферативный потенциал эндотелиальных клеток. Однако у больных ХПН, находящихся на гемодиализе, увеличение продукции NO может быть связано с активацией моноцитов, во

время процедуры диализа контактирующих с мембраной диализатора, повышением активности iNOS. В этом отношении интересны сведения о способности ЭПО предупреждать чрезмерную активацию фагоцитов в ходе диализной процедуры [10].

Заключение

Таким образом, при ХПН в условиях дефицита эндогенного ЭПО наблюдаются тромбоцитопения и угнетение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, активируются нитроксидергические процессы и повышается уровень фактора фон Виллебранда в сыворотке. Угнетение агрегации тромбоцитов и повышение уровня фактора фон Виллебранда в сыворотке нарастает по мере повышения концентрации конечных стабильных метаболитов оксида азота (II). Применение экзогенного ЭПО у больных ХПН в суммарной дозе около 40000 МЕ увеличивает количество тромбоцитов, тромбокрит, средний объем тромбоцитов, восстанавливает агрегационную способность тромбоцитов, приводит к снижению уровня фактора фон Виллебранда и метаболитов оксида азота (II) в сыворотке. Увеличение скорости агрегации тромбоцитов под влиянием ЭПО нарастает по мере снижения концентрации метаболитов оксида азота (II) в сыворотке.

Список литературы

1. Осиков М.В. Анализ эфферентных свойств церулоплазмينا и альфа-1-кислого гликопротеина при экспериментальном перитоните / Осиков М.В., Кривохижина Л.В., Мальцев А.В. // Эфферентная терапия. – 2006. – Т. 12. – № 4. – С. 36-39.
2. Осиков М.В. Гемостазиологические эффекты а-кислого гликопротеина при экспериментальном септическом перитоните / Осиков М.В., Макаров Е.В., Кривохижина Л.В. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2007. – Т. 144. – № 8. – С. 143-145.
3. Осиков М.В. Реактивные изменения клеточно-гуморальной системы организма как типовой патологический процесс и его регуляция реактантами острой фазы : автореферат дис. ... д-ра мед. наук. – Челябинск, 2008. – 46 с.
4. Осиков М.В. Анализ гематологических эффектов эритропоэтина у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на диализе / М.В. Осиков [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2009. – № 20 (153). – С. 79-82.
5. Осиков М.В. К вопросу о механизме влияния эритропоэтина на аффективный статус у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе / М.В. Осиков, К.В. Ахматов, А.А. Федосов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 7-1. – С. 140-145.

6. Осиков М.В. Влияние эритропоэтина на активность систем плазменного протеолиза при экспериментальной почечной недостаточности // М.В. Осиков, Т.А. Григорьев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 153. – № 1. – С. 27-30.
7. Huang X. Erythropoietin receptor signaling regulates both erythropoiesis and megakaryopoiesis in vivo / X. Huang, L.J. Pierce, G.L. Chen // Blood Cells. Mol. Dis. – 2010. – Vol. 44. – № 1. – P. 1-6.
8. Kirkeby A. High-dose erythropoietin alters platelet reactivity and bleeding time in rodents in contrast to the neuroprotective variant carbamyl-erythropoietin (CEPO) / A. Kirkeby, L. Torup, L. Bochsén // Thromb. Haemost. – 2008. – Vol. 99. – № 4. – P. 720-728.
9. Lappin T. The cellular biology of erythropoietin receptors // The Oncologist. – 2003. – Vol. 8. – № 1. – P. 15-18.
10. Pereira R. Neutrophil and monocyte activation in chronic kidney disease patients under hemodialysis and its relationship with resistance to recombinant human erythropoietin and to the hemodialysis procedure / R. Pereira, E. Costa, M. Goncalves // Hemodial Int. – 2010. – Vol. 14. – № 3. – P. 295-301.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект 12-04-31726 «Механизм влияния эритропоэтина на функциональную активность тромбоцитов».

Рецензенты

Цейликман В.Э., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой биологической химии ГБОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России», г. Челябинск.

Абрамовских О.С., д.м.н., старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России», г. Челябинск.