

## МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТРОМБОЦИТІВ ПРИ ГОСТРИХ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ДІЛЯНКИ

### Івано-Франківська державна медична академія

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТРОМБОЦИТІВ ПРИ ГОСТРИХ ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСАХ ЩЕЛЕПНО-ЛИЦЕВОЇ ДІЛЯНКИ – У статті за допомогою методики електронної мікроскопії показано, що між функціональним станом тромбоцитів та їх ультрамікроскопічною структурою в умовах розвитку гострих гнійних захворювань щелепно-лицевої ділянки існує тісний позитивний зв'язок. Він насамперед проявляється змінами співвідношення і зменшення кількості гранулярного компонента ( $\alpha$ -гранул, серотонінвмісних гранул і гранул глікогену), що лежить в основі підвищеної активності і готовності тромбоцитів до агрегації.

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ТРОМБОЦИТОВ ПРИ ОСТРЫХ ГНОЙНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ОБЛАСТИ – В статье с помощью методики электронной микроскопии показано, что между функциональным состоянием тромбоцитов и их ультрамикроскопической структурой в условиях развития острых гнойных заболеваний челюстно-лицевой области существует тесная положительная связь. Она прежде всего проявляется изменениями соотношения и уменьшением количества гранулярного компонента ( $\alpha$ -гранул, серотонинсодержащих гранул и гранул гликогена), что лежит в основе повышенной активности и готовности тромбоцитов к агрегации.

MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF THE BLOOD PLATES WITH ACUTE INFLAMMATORY PROCESSES IN THE FACIAL-MANDIBULAR REGION – By means of an electron microscopic method it was shown that between functional changes and their ultramicroscopic structure with acute inflammatory processes in the facial-mandibular region the high correlation connection occurs. It normally causes certain changes in proportion and quantity of the granules ( $\alpha$ -granules, serotonin and granules glycogen) and lies in the basis of the increased blood platelets activity and beginning of aggregation.

**Ключові слова:** гострі запальні процеси, тромбоцити, агрегація.

**Ключевые слова:** острые воспалительные процессы, тромбоциты, агрегация.

**Key words:** acute inflammatory processes, blood platelets, aggregation.

**ВСТУП** З результатів багаточисельних досліджень відомо, що в генезі тромбоемболічних ускладнень при гострих запальних процесах щелепно-лицевої ділянки значна роль відводиться функціональному стану системи гемостазу [1,2,6,9,15].

Функціональна активність тромбоцитів визначається їх здатністю до агрегації, яка при гострій хірургічній інфекції, як правило, значно підвищена [6]. Це свідчить, з одного боку про активну роль тромбоцитів у формуванні місцевих мікротромбів [16,17], з іншого – про участь тромбоцитів в процесах, які сприяють порушенню мікроциркуляції в органах і тканинах при гострих запальних процесах щелепно-лицевої ділянки [3].

С.А. Матвеев [6] показав, що агрегуюча здатність тромбоцитів знаходиться в залежності від швидкості реакції дегрануляції при контакті тромбоцитів з бактеріями та їх токсинами в умовах гнійної хірургічної інфекції.

У клінічній практиці ці питання вивчені недостатньо, хоча з врахуванням впливу позаклітинної локалізації різноманітних гранул тромбоцитів на функцію мікроциркуляторного русла і гемостаз вони мають безсумнівно важливе теоретичне і практичне значення. Раніше була сформульована гіпотеза про те, що зміни агрегаційних властивостей тромбоцитів супроводжуються характерними змінами їх мікоморфології [3,4,7,8,12].

Тому метою роботи було провести оцінку процесів дегрануляції та агрегації тромбоцитів в процесі розвитку гострих запальних процесів щелепно-лицевої ділянки на ультраструктурному рівні.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Тромбоцитарний осад, виділений з багатої тромбоцитами плазми, фіксували в розчині Карновського протягом 60 хв, потім промивали у фосфатному буфері (pH=7,4) і дофіксували розчином Паладе. Після фіксації осад обезводнювали в спиртах зростаючої концентрації, контрастували в 1% спиртовому розчині уранілацетату. Підготовлений таким чином тромбоцитарний осад заключали в суміш епоксидних смол "епон-аралдит". Зрізи товщиною 20-40 нм готували на ультрамікромітомі УМПТ-6М, які контрастували в цитраті свинцю за Рейнольдсом. Для кращого виявлення гранулярного компонента тромбоцитів препарати контрастували в 1% водному розчині перманганату калію з наступною обробкою в 5% розчині лимонної кислоти.

Виготовлені таким чином препарати переглядали в електронному мікроскопі ПЕМ-100К і МБЦ-100.

Агрегацію тромбоцитів визначали методом Colman R.W. et al. [10]. В якості агрегуючого агента використовували АДФ. Кінцева концентрація АДФ була 5мкМ.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Як видно з табл. 1, агрегація кров'яних пластинок під дією АДФ у хворих з гострими запальними процесами щелепно-лицевої ділянки була значно вищою, ніж у здорових людей.

У 5% пацієнтів з гострими запальними процесами щелепно-лицевої ділянки була відсутня фаза дезагрегації. У хворих з гострими запальними процесами щелепно-лицевої ділянки виявлено найбільш значне прискорення і збільшення дегрануляції тромбоцитів. Майже у 89% всіх пацієнтів агрегація мала незворотний характер. Лише в 2 із 38 пацієнтів була повна і в 9 – неповна дезагрегація тромбоцитів. Виявлений певний зв'язок між вираженістю агрегації і часом, який пройшов від початку клінічного прояву гострої хірургічної інфекції. Чим довший період, тим більшою була кількість випадків і довшим час агрегації при додаванні дезагрегантів (табл.2).

Зміна функціонального стану тромбоцитів знайшла своє підтвердження в структурному зсуві, який проходить в них в перший тиждень з початку захворювання.

При аналізі електронних мікрофотографій звертають на себе увагу помірні зміни в ультраструктурі тромбоцитів, які проявляються в помітному збільшенні кількості  $\alpha$ -гранул і гранул глікогену (табл.3).

Підвищення агрегації тромбоцитів супроводжується значним зниженням кількості серотонінвмісних гранул в тромбоцитах.

**Таблиця 3. Кількісні зміни гранулярного компонента тромбоцитів при гострих запальних процесах щелепно-лицевої ділянки**

Структурні елементи тромбоцитів	Здорові люди	Пациєнти		P <sub>12</sub>	P <sub>13</sub>	P <sub>23</sub>
		ступінь вираженості				
к-сть на зріз	I група	середнього	важкого			
α-гранул	10,2±0,6	15,0±2,9	12,7±0,8	<0,05	>0,05	>0,05
β-гранул	1,5±0,08	0,9±0,09	1,6±0,22	>0,05	>0,05	<0,05
Глікоген	1,4±0,06	1,5±0,11	1,5±0,12	<0,05	>0,05	<0,05
Серотонінвмісткі	0,29±0,4	0,2±0,05	0,2±0,04	>0,05	>0,05	>0,05

Примітка. Зерна глікогену підраховували в умовних одиницях: 1 – незначна кількість гранул глікогену на площі зрізу; 2 – незначні розсіяні скупчення глікогену; 3 – значні скупчення; 4 – майже вся площа зрізу тромбоцита зайнята гранулами глікогену.

У пацієнтів після 7 днів з початку гострих запальних процесів щелепно-лицевої ділянки зміна в структурі тромбоцитів була найбільш різко виражена (рис.1). Більшість тромбоцитів втрачає дископодібну форму і утворює велику кількість псевдоподій, руйнується субмембранний шар мікротрубочок, в основі псевдоподій спостерігається велика кількість мікрофіламентів. Матрикс тромбоцитів гетерогенний, більшість гранул мають примембранну і позаклітинну локалізацію, що, можливо, лежить в основі процесів утворення псевдоподій [11,14]. В окремих кров'яних пластинках руйнується зовнішня мембрана (рис.2).

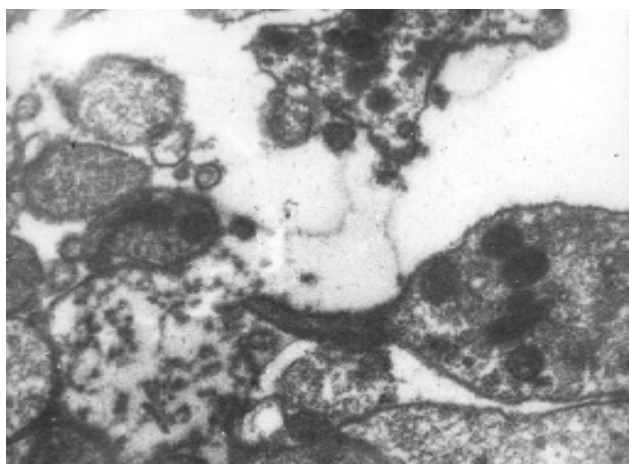


Рис. 1. Ультраструктурна організація тромбоцитів через тиждень з початку гострого запального процесу щелепно-лицевої ділянки. Утворення щільних агрегатів, активна дегрануляція і вакуолізація цитоплазми. Зб.: x 6000.

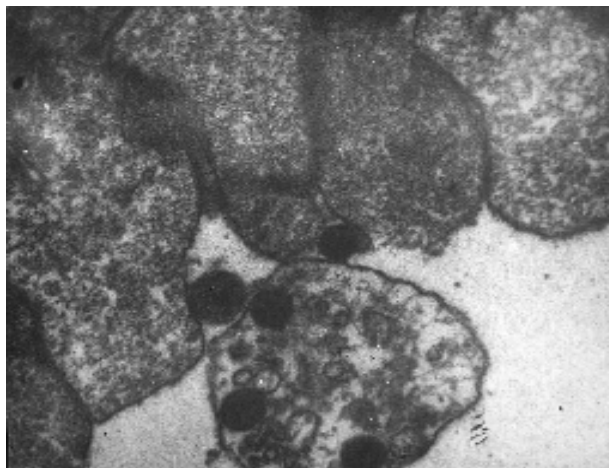


Рис. 2. Ультраструктурна організація тромбоцитів через тиждень з початку гострого запального процесу щелепно-лицевої ділянки. Утворення псевдоподій, примембранна локалізація, руйнування зовнішньої мембрани окремих тромбоцитів. Зб.: x 6000.

Відомо, що серотонін в органелах знаходиться в комплексі з АТФ. Розпад цього комплексу супроводжується виходом серотоніну і дефосфорилюванням АТФ до АДФ, який викликає агрегацію тромбоцитів [2]. Знайдені ультраструктурні ознаки активації тромбоцитів опосередковано можуть бути доказом такого механізму розвитку процесів агрегації при гострих запальних процесах щелепно-лицевої ділянки.

Підвищення кількості α-гранул і локалізація їх в субмембранній зоні свідчить про високу тромбопластичну активність тромбоцитів, і їх готовність до викиду ліпідного фактора в систему загального кровообігу [12]. При цьому накопичення в тромбоцитах глікогену є відображенням активності в'язкого метаморфозу і потенціального мікротромбоутворення.

При гострих запальних процесах щелепно-лицевої ділянки відбуваються зміни як функції, так і ультраструктури тромбоцитів, які відображають їх участь в процесах патологічного тромбоутворення і є вихідним структурним пунктом для можливих тромбоемболічних ускладнень.

1. Битюцких О.Н. Клиника, диагностика и лечение острых воспалительных заболеваний лица и шеи у детей раннего возраста // Современные методы профилактики, диагностики и лечения важнейших заболеваний. Материалы программно-целевых исследований к 80-летию Н.Н. Бурденко. – Воронеж. – 1998. – Часть 6. – С. 34.

2. Бышевский А.Ш., Галян С.Л., Вакулин А.А. и др. Роль тромбоцитов в гемостазе // Международный симпозиум "Медицина и охрана здоровья". – Тюмень. – 1996. – С. 19-29.

3. Екимов В.В. Действие лекарственных веществ, влияющих на процессы коагуляции крови, в условиях гипербарической оксигенации // Автореф. дис...канд. мед. наук. – Казань, 1987. – 18 с.

4. Лысогоров Н.В., Муляр А.Г., Макаров В.А. Ультраструктура и функции кровяных пластинок // Актуальные проблемы сердечно-сосудистой патологии. – М.: Медицина, 1975. – С.51-55.

5. Макария А.Д., Добровольский В.И., Мищенко А.Л. Состояние тромбоцитарного звена системы гемостаза у больных с сепсисом и септическим шоком // Сов.мед. – 1984. – №4. – С.34-39.

6. Матвеев С.А. Изменение функциональных свойств тромбоцитов при хирургической инфекции и пути их координации // Весник хирургии. – 1988. – №6. – С.142-145.

7. Радзивил Г.Г., Минскер Г.Д. Изменение реологических свойств крови при септическом шоке // Весник хирургии. – 1984. – №4. – С.19-25.

8. Фермилан Ж., Ферстрате М. Гемостаз. – М.: Медицина, 1984. – 192с.

9. Шимкевич Л.Л., Амирасланов Ю.А. Изменения в системе гемостаза у больных с гнойной хирургической инфекцией // В кн. Раны и раневая инфекция. – М.: Медицина, 1981. – С.161-186.

10. Colman R.W., Smith J.B. Methods for studying platelets and megakaryocytes. – New York: Liss, 1987. – 308 p.

11. Fritz M., Radmacher M., Gaub H.E. Granula motion and membrane spreading during activation of human platelets imaged by atomic force microscopy // *Biophys J.* – 1994. – 66(5). – P. 1328-1334.
12. Hughes M., Hayward C.P., Warkentin T.E., Warkentin T.E. Morphological analysis of microparticle generation in heparin-induced thrombocytopenia // *Blood* – 2000. – v. 96, №1. – Supl. 1. – P.188-194.
13. Hughes M., Weibert K., Kelton J.G. The use of electron microscopy in the investigation of the ultrastructural morphology of immune thrombocytopenic purpura platelets. – *Semin Hematol.*, 2000. – v.114, № 2. – P.283-289.
14. Jagroop I.A., Clatworthy I., Lewin J., Mikhailidis D.P. Shape change in human platelets: measurement with a channelyzer and visualization by electron microscopy // *Platelets*. – 2000. – v. 1, № 11. – P.28-32.
15. Poskitt Th.R., Postnov P.K.F. Thrombocytopenia of sepsis. The role of circulating IgG-containing immune complex // *Arch. Int. Med.* – 1985. – v.145, №5. – P.891-894.
16. Richter G.M., Palmaz J.C., Noeldge G., Tio F. Blood flow and thrombus formation determine the development of stent neointima // *J. Long Term Eff. Med. Implants*. – 2000. – v.10, № 1-2. – P.69-77.
17. Toshima Y., Satoh S., Ikegaki I., Asano T. A new model of cerebral microthrombosis in rats and the neuroprotective effect of a Rho-kinase inhibitor // *Stroke* – 2000. – v.31, № 9. – P.2245-2250.