

ДИНАМІКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ТРОМБОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ПАНКРЕАТИТ

Резюме. В статті описано результати дослідження функціонального стану тромбоцитів у хворих на гострий панкреатит. Унікальність тромбоцитів визначається тим, що вони першими вступають у реакції гемостазу (судинно-тромбоцитарна ланка), ферментативна ланка гемостазу активується при безпосередньому їх залученні до цього процесу.

Ключові слова: панкреатит; гемостаз; тромбоцити

Вступ

Гострий панкреатит до цього часу залишається однією з найважчих проблем абдомінальної хірургії. Гострий панкреатит — це асептичне/септичне запалення підшлункової залози та парапанкреатичної клітковини, яке, як і кожний запальний процес, супроводжується змінами гемостазу. В цій системі важливу роль відіграють тромбоцити, оскільки вони є першою ланкою, що реагує на порушення цілісності судинної стінки (судинно-тромбоцитарний гемостаз). Слід зважати і на те, що більшість реакцій ферментного гемостазу теж відбувається на поверхні тромбоцитів. Тромбоцити беруть участь у найбільш ранніх стадіях тромботичного процесу, що важко як виявити, так і оцінити.

Метою даної роботи є дослідження динаміки функціонального стану тромбоцита у хворих на гострий панкреатит середньої тяжкості.

Матеріали та методи

Нами обстежено 18 хворих (8 жінок і 10 чоловіків), які надходили у Львівську обласну клінічну лікарню з діагнозом гострого панкреатиту середньої тяжкості [5] у 2010–2015 роках. Причинами гострого панкреатиту в 10 пацієнтів були жовчнокам'яна хвороба і мікролітіаз, у 4 хворих — зловживання алкоголем, ще у 4 пацієнтів було діагностовано ідіопатичний панкреатит. Лікування проводилося відповідно до загальноприйнятих протоколів [1–3, 6, 7]. У рамках дослідження виконано обсерваційне нерандомізоване проспективне когортне дослідження з метою уточнення стану судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих на гострий панкреатит середньої тяжкості.

Одним із перших і дотепер достатньо поширеним способом оцінки функціонального стану тромбоцитів є турбінометричний метод, що має як переваги,

так і недоліки. Оцінка змін форми кров'яних пластинок у клінічних та експериментальних дослідженнях проводиться мікроскопічними методами або із застосуванням спеціальних приладів. Останні обмежують можливість використання методики в широкій клінічній практиці. Мікроскопічне дослідження зміни форми кров'яних пластинок під фазоконтрастним мікроскопом не вимагає дорогої апаратури. Окрім того, цей метод дає більше інформації про динаміку процесу, дозволяє визначити відношення різних форм тромбоцитів, характер і число відростків, що утворилися. На результати дослідження не впливає агрегація, яка чітко диференціюється та одночасно оцінюється кількісно. Мікроскопічний спосіб дозволяє досліджувати зміни форми тромбоцитів, що індуковані різними агоністами, і такі, що спонтанно виникли внаслідок витікання крові з вени. Важливим є те, що морфологія тромбоцитів при негайній фіксації венозної крові відображає їх функціональний стан у кровотоці. У здорової людини в кровотоці є певна частина активованих тромбоцитів, однак при патології зміна цього показника є більш чутливою при оцінці внутрішньосудинної активації кров'яних пластинок порівняно з індексом внутрішньосудинної агрегації, вмістом у безтромбоцитарній масі β -тромбоглобуліну та фактора-4 за даними індукованої агрегації *in vitro*. При патології, що призводить до активації тромбоцитарної ланки гемостазу, в кровотоці зростає не тільки кількість тромбоцитів зі зміненою формою, але і процент внутрішньосудинних агрегатів. У таких хворих схильність тромбоцитів до спонтанної зміни форми в стабілізованій крові підвищена.

Ми використовуємо мікроскопічний метод дослідження форми тромбоцитів у циркулюючій крові,

а також оцінюємо її зміни при спонтанній активації клітин після отримання крові з судинного руслу. В основі методики лежить метод J. Fromovik і R. Milton (1982). Одночасно в тому ж препараті проводимо пряме визначення відносної кількості тромбоцитарних агрегатів, які є в досліджуваному зрізці [4].

Результати та обговорення

Як було зазначено, нами обстежено 18 хворих на гострий панкреатит середньої тяжкості. Всі хворі обстежені протягом 1–2 днів з моменту виникнення симптомів гострого панкреатиту (етап d_0). У подальшому дослідження активності тромбоцитів проводилося на 3, 5, 7 та 10-ту добу лікування (відповідно етапи — d_3 , d_5 , d_7 , d_{10}). У хворих були ознаки перипанкреатичного некрозу та тимчасової поліорганної дисфункції (серцево-судинної, респіраторної і ниркової). Тяжкість панкреатиту оцінювали в 3 ± 1 бал за шкалою Ranson, тяжкість стану хворих оцінювалася в 15 ± 1 бал за шкалою APACHE II, тяжкість поліорганної дисфункції — у 5 ± 1 бал за шкалою SOFA.

Суттю первинного судинно-тромбоцитарного гемостазу є утворення тромбу в судинах низького тиску (мікроциркуляції). Цей процес проходить три етапи: місцева вазоконстрикція (місцева дія серотоніну, адреналіну, тромбоксану A2), адгезія (прилипання) тромбоцитів до ушкодженого (оголеного) колагену ендотелію судин і їх агрегація з утворенням білого тромбу. При ушкодженні ендотелію тромбоцити контактують з білками субендотелію, фактором фон Віллебранда, тромбоспондином, фібронектином та ін. Крім тромбіну, тромбоцити активує фактор агрегації тромбоцитів аденозиндифосфат (АДФ). Останній виділяється з клітин при їх ушкодженні. Активації тромбоцитів сприяють катехоламіни та серотонін. Адгезивно-агрегаційна функція тромбоцитів залежить від транспорту в них Ca^{2+} , а також від утворення з мембранних фосфоліпідів арахідонової кислоти та циклічних похідних простагландинів. При цьому в тромбоцитах утворюється потужний стимулятор агрегації та ангіоспазму тромбоксан A2, а в ендотеліальних клітинах — антиагрегант і вазодилататор простациклін. При ушкодженні ендотелію переважає процес утворення тромбоксану. Цей дисбаланс між тромбоксаном і простацикліном різко посилює агрегацію.

Першим видимим проявом активації тромбоцитів є зміна їх форми. Форма тромбоцитів та її зміни є проявом функціонального стану клітини. В судинному руслі за відсутності патологічних чинників більшість інтактних тромбоцитів мають характерну дискоїдну

форму і називаються дискоцитами (Д). Інтактний стан тромбоцитів має потенційну можливість, при появі в кровотоці активуючих стимулів, до специфічних перетворень. При цьому розвиваються послідовні зміни форми тромбоцита: від форми інтактного тромбоцита (дискоцита) до активованих клітин — дискоехіноцита й далі до сфероцита (С) або сфероєхіноцита (СЕ). На поверхні дискоехіноцита (ДЕ) з'являються відростки, у сфероєхіноцита не тільки форма клітини стає більш сферичною, але й зростає число відростків на їх поверхні. ДЕ відрізняються від Д наявністю поодиноких і коротких відростків, які з'являються протягом першої секунди після активації внаслідок тиску зсередини на плазматичну мембрану активних філаментів. Зміна форми стимульованих тромбоцитів в основному зумовлена деполімеризацією мікротубулярного кільця та формуванням пучків мікрофіламентів активу. Скорочення актоміозину завершує ланку реакцій скорочення та зумовлює деяке зменшення об'єму СЕ.

У хворих на гострий панкреатит вже на третю добу захворювання спостерігалось вірогідно значуще зменшення кількості інтактних тромбоцитів ($71,4 \pm 1,1$; $p < 0,05$) та зростання числа активованих їх форм, що вказує на активацію судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу вже на початку захворювання на панкреатит (табл. 1). Сума активних форм тромбоцитів становила 23,8 % ($N = 7,9-17,7$ %).

Зростання кількості інтактних форм тромбоцитів відбувалося лише на 10-ту добу проведення інтенсивної терапії у хворих на гострий панкреатит середньої тяжкості (табл. 1).

Форма тромбоцита та її зміни є проявом функціонального стану клітини. Дискоїдна форма спостерігається при інтактному стані тромбоцита, але і такі тромбоцити мають здатність до обмеженого числа реакцій. Вони можуть взаємодіяти з колагеном ушкоджених судин і включатися в контактну фазу адгезії до субендотеліальних структур. Активування фактора XI під впливом колагену теж відбувається на поверхні Д, без зміни його форми. Отже, Д, що не здатний до безпосереднього розвитку агрегації, секреції, рефракції, може піддаватися рецепторній мембранній активації, і відповідно *in vitro* змінені форми викликаються субстанціями (для яких на мембрані тромбоцитів є специфічні рецептори), тобто тромбіном, колагеном, АДФ, серотоніном та іншими агоністами. Д може активуватися при виникненні турбулентного току крові. Вважається, що і в такій ситуації мембранна активація опосередкована АДФ, що вивільняється з еритроцита. Цьому процесу протидіє простациклін.

Таблиця 1. Функціональний стан тромбоцитів у хворих на гострий панкреатит середньої тяжкості

Функціональний стан тромбоцита (%)	Норма (%)	Етапи дослідження				
		d_0	d_3	d_5	d_7	d_{10}
Д	81,5–91,6	$82,4 \pm 9,1$	$71,4 \pm 1,1^*$	$79,1 \pm 2,1$	$79,6 \pm 6,4$	$90,6 \pm 2,1^{**}$
ДЕ	5,4–14,2	$15,2 \pm 0,8$	$16,8 \pm 0,4^*$	$15,2 \pm 0,2$	$15,3 \pm 0,2$	$14,8 \pm 0,4^{**}$
С	0,5–3,0	$3,2 \pm 0,7$	$5,2 \pm 0,4^*$	$4,1 \pm 0,3$	$4,1 \pm 0,2$	$3,7 \pm 0,2$
СЕ	0–2,6	$2,2 \pm 0,5$	$4,7 \pm 0,5^*$	$3,9 \pm 0,3$	$3,0 \pm 0,2$	$2,8 \pm 0,2^{**}$

Примітки: * — вірогідна різниця з нормальним значенням ($p < 0,05$); ** — вірогідна різниця з попереднім етапом дослідження ($p < 0,05$).

З появою ДЕ збігається розвиток вираженої гемостатичної активності тромбоцитів: ДЕ здатні як до вираженої адгезії, так і до агрегації, що зумовлено експозицією в цій фазі на плазматичній мембрані фібриногенових рецепторів. Поява відростків також сприяє агрегації, збільшуючи ймовірність зіткнення кров'яних пластинок, що є необхідним для даного процесу. Утворення ДЕ супроводжується швидкою (протягом однієї секунди) стимуляцією каталітичних властивостей фосфоліпідів плазматичної мембрани, що призводить до генерації фактора Ха та тромбіну. В подальшому при утворенні значної кількості SE агрегаційна активність дещо знижується, починає розвиватися рефрактерність клітини, що максимально виражена в SE.

Висновки

Наведені дані про механізми та функціональне значення зміни форм кров'яних пластинок при їх стимуляції вказують на можливість використання цих показників при патологічних станах, що супроводжуються порушеннями гемостазу. Внутрішньосудинна активація тромбоцитів при патології зумовлена багатьма причинами: зміною стінки судин, ушкодженням тканин, руйнуванням або стимуляцією клітин крові. В багатьох клінічних дослідженнях було показано, що певні зміни морфології тромбоцитів є чутливим маркером оцінки ранніх фаз їх активації.

Конфлікт інтересів. Автор заявляє про відсутність конфлікту інтересів при підготовці даної статті.

Отримано 02.10.2016 ■

Список літератури

1. Багненко С.Ф. *Протоколи діагностики и лечения острого панкреатита* / Багненко С.Ф., Толстой А.Д., Краснорогов В.Б., Курыгин А.А. и др. *Пособие для врачей.* — К., 2007. — 12 с.
2. Коновалов С.П. *Стандарти діагностики і лікування гострого панкреатиту* / Коновалов С.П., Терлецький В.П., Роцін Г.Г., Плячок А.О. та ін. *Методичні рекомендації.* — К., 2005. — 27 с.
3. Мальцева Л.О. *Острые панкреатиты* / Мальцева Л.О., Кутувий О.Б., Кобеляцький Ю.Ю. — Дніпропетровськ: Лізунов Прес, 2014. — 192 с.
4. Шитикова А.С. *Морфологическая оценка повышенной внутрисосудистой активации тромбоцитов* / Шитикова А.С., Каргин Р.Д., Беляз О.Е., Салтыкова Н.В., Понкратьева С.Е. *Методические рекомендации.* — СПб., 1996. — 17 с.
5. Chooklin S.M., Dellinger E.P., Forsmark C.E. et al. *Детермінантно-основана класифікація тяжкості гострого панкреатиту (Міжнародний мультидисциплінарний консиліум) (українська версія) // Шпитальна хірургія.* — 2015. — № 1. — С. 10-18.
6. Cruz-Santamaria D.M., Taxonera C., Giner M. *Update on pathogenesis and clinical management of acute pancreatitis* // *World J. Gastrointest. Pathophysiol.* — 2012. — № 3(3). — P. 60-70.
7. *Surviving Sepsis Campaign: international Guidelines for Management of Severe Sepsis and Septic Shock: 2012 (SSC — Guidelines: 2012) // Intensive Care Med.* — 2013. — Vol. 38, № 1. — P. 296-327.

Пидгирный Б.Я.

Львовская областная клиническая больница, г. Львов, Украина

ДИНАМИКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ

Резюме. В статье описаны результаты исследования функционального состояния тромбоцитов у больных острым панкреатитом. Уникальность тромбоцитов определяется тем, что они первыми вступают в реакции гемо-

стаза (сосудисто-тромбоцитарное звено), ферментативное звено гемостаза активируется при непосредственном их участии в этом процессе.

Ключевые слова: панкреатит; гемостаз; тромбоциты

B.Ya. Pidhirny

Lviv Regional Clinical Hospital, Lviv, Ukraine

THE DYNAMICS OF THE FUNCTIONAL STATE OF PLATELETS IN PATIENTS WITH ACUTE PANCREATITIS

Abstract. Background. Acute pancreatitis is the inflammation of the pancreas and the peripancreatic fat tissue. Like any inflammation, it is associated with changes of hemostasis, where platelets play an important role, as they are a component of blood clotting, and most enzymatic hemostasis reactions occur on the surface of platelets. The aim of this study was to investigate the changes in platelet morphology and functional state of patients with acute pancreatitis. **Materials and methods.** We have assessed 18 patients (8 females, 10 males), who had been admitted to Lviv regional clinical hospital because of moderate acute pancreatitis [5] between 2010 and 2015. In 10 cases, acute pancreatitis was caused by cholelithiasis and microlithiasis, in 4 patients — by the alcohol, while 4 patients presented with idiopathic pancreatitis. All patients were treated according to the generally accepted guidelines [1–3, 6, 7]. We utilized microscopy of platelets and assessed the changes in platelet shape following spontaneous platelet activation after the drawing of sam-

ple. The method is based upon Fromovik and Milton technique (1982). **Results.** Decreased count of intact platelets (71.4 ± 1.1 ; $p < 0.05$) and increased count of activated cells was noted on the third day of disease, indicating early activation of platelet phase of blood clotting. The total fraction of active platelets on the third day of disease was 23.8 % ($N = 7.9–17.7$ %). Increase of the count of intact platelets was observed only on the 10th day of the course of moderate acute pancreatitis. The total fraction of active platelets on that day was 15.6 %. **Conclusions.** Our data on the changes in shape of platelets following stimulation indicate that these parameters may be used in conditions associated with impaired hemostasis. Intravascular activation of platelets is caused by numerous factors, including changes in vascular wall, tissue damage, etc. Many clinical studies have shown that morphological changes of platelets are early indicators of platelet activation.

Keywords: pancreatitis; hemostasis; platelets