

УДК 616.37-002-036.11-07:616.155.2-07

Б.Я. ПІДГІРНИЙ

Львівська обласна клінічна лікарня, Львів

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ТРОМБОЦИТІВ У ХВОРИХ ІЗ ГОСТРИМ ПАНКРЕАТИТОМ

У статті досліджено морфологічний та функціональний стан тромбоцитів як компонента судинного гемостазу у хворих із гострим панкреатитом середньої тяжкості. Показано, що у хворих з гострим панкреатитом середньої тяжкості вже на початку захворювання зменшується кількість неактивних тромбоцитів, а зростає кількість їх активованих форм. Сума активних форм тромбоцитів становила 23,8% (N = 7,9-17,7%).

Ключові слова: панкреатит, судинно-тромбоцитарний гемостаз

Вступ. Тромбоцити відіграють важливу роль у системі гемостазу, оскільки вони є першою ланкою, яка реагує на порушення цілісності судинної стінки (судинно-тромбоцитарний гемостаз) та більшість реакцій ферментного гемостазу теж відбувається на поверхні тромбоцитів. Тобто тромбоцити беруть участь у найбільш ранніх стадіях тромботичного процесу, які важко як виявити, так і оцінити.

Мета дослідження. Дослідити морфофункціональний стан тромбоцитів як компонента судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих з гострим панкреатитом середньої тяжкості.

Матеріали та методи. Оцінка змін форми кров'яних пластинок, як в клінічних, так і в експериментальних дослідженнях проводиться мікроскопічними методами, або, з застосуванням спеціальних приладів. Останні обмежують можливість використання методики в широкій клінічній практиці. Одним з перших та до теперішнього часу достатньо поширеним способом оцінки функціонального стану тромбоцитів є турбінометричний метод, який має як низку переваг, так і недоліків. Мікроскопічне дослідження зміни форми кров'яних пластинок під фазоконтрасним мікроскопом не вважає дороговартісною апаратури. Окрім того, цей метод дає більше інформації про динаміку процесу, дозволяє визначити співвідношення різних форм тромбоцитів, характер і число відростків, які утворилися. На результати дослідження не впливає агрегація, яка чітко диференціюється та одночасно оцінюється кількісно. Мікроскопічний спосіб дозволяє досліджувати зміни форми тромбоцитів як індуковані різними агоністами, так і внаслідок спонтанно виникаючими внаслідок витікання крові з вени. Дуже важливим є те, що морфологія тромбоцитів при негайній фіксації венозної крові відображає їх функціональний стан в кровотоці. У здорової людини в кровотоці є теж певна частина активованих тромбоцитів, але при патології зміна цього показника є більш чутливим при оцінці внутрішньосудинної активації кров'яних пластинок у порівнянні з індексом внутрішньосудинної агрегації, вмістом у безтромбоцитарній масі β -тромбоглобуліна та фактора 4 та даними індукованої агрегації *in vitro*. При патології, яка призводить до активації тромбоцитарної ланки гемостазу, в кровотоці зростає не тільки кіль-

кість тромбоцитів із зміненою формою, але і зростає процент внутрішньосудинних агрегатів. У таких хворих є підвищена схильність тромбоцитів до спонтанної зміни форми в стабілізованій крові.

Ми використовуємо мікроскопічний метод дослідження форми тромбоцитів у циркулюючій крові, а також оцінюємо її зміни при спонтанній активації клітин після отримання крові з судинного русла. В основі методики лежить метод Fromovik et Milton (1982). Одночасно в тому ж препараті проводимо пряме визначення відносної кількості тромбоцитарних агрегатів, які є в досліджуваному зрізці [3].

Нами обстежено 18 хворих (8 жінок та 10 чоловіків), які поступали у Львівську обласну клінічну лікарню з діагнозом гострого панкреатиту середньої тяжкості [1] з 2010 по 2015 рік. Причиною гострого панкреатиту у 10 пацієнтів була жовчнокам'яна хвороба і мікролітіаз, у 4 хворих – зловживання алкоголем, а у 4 пацієнтів було діагностовано ідіопатичний панкреатит. Лікування проводилося згідно з загальноприйнятими протоколами [2, 4-7]. В рамках дослідження виконано обсерваційне нерандомізовані проспективне когортне дослідження з ціллю уточнення стану судинно-тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих з гострим панкреатитом середньої тяжкості.

Результати досліджень та їх обговорення. Як вже було сказано, нами обстежено 18 хворих з гострим панкреатитом середньої тяжкості. Всі хворі були обстежені впродовж 1–3 днів із моменту виникнення симптомів гострого панкреатиту. У хворих були ознаки перипанкреатичного некрозу та тимчасової поліорганної дисфункції (серцево-судинної, респіраторної та ниркової). Тяжкість панкреатиту оцінювали в 3 ± 1 бал за шкалою Ranson, тяжкість стану хворих оцінювалася 15 ± 1 бал за шкалою APACHEII та тяжкість поліорганної дисфункції – 5 ± 1 бал за шкалою SOFA.

У хворих із гострим панкреатитом спостерігалось зменшення інтактних тромбоцитів та зростання кількості 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%).

Таблиця 1

Функціональний стан тромбоцитів у хворих із гострим панкреатитом середньої тяжкості (M±m)

Об'єкт дослідження	Дискоцити	Дискоехіноцити	Сфероцити	Сфероехіноцити
Венозна кров здорових людей (абс к-ть) тромбоцитів n=12	223,73±12,1	26,0±1,5	3,8±0,4	3,1±0,6
Венозна кров здорових людей (% розподіл різних форм тромбоцитів) n=12	86,6±0,6	9,8±0,5	1,7±0,1	1,3±0,5
Венозна кров у людей з ГП (абс к-ть) тромбоцитів n=18	187±9,1 ^x	52,6±0,7 ^x	5,8±0,3 ^x	4,7±0,9 ^x
Венозна кров людей з ГП (% розподіл різних форм тромбоцитів) n=18	74,4±9,1 ^x	15,8±0,8 ^x	4,2±0,7 ^x	3,8±0,5 ^x

Примітка: ^x – різниця достовірна у порівнянні зі здоровими людьми (p<0,05)

Першим видимим проявом активації тромбоцитів є зміна їх форми. Форма тромбоцитів та її зміни є проявом функціонального стану клітини. В судинному руслі при 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 тромбоциту: від форми інтактного тромбоциту (дискоциту) до активованих клітин – дискоехіноциту і далі до сфероциту (С) або сфероехіноциту (СЕ). На поверхні дискоехіноциту (ДЕ) з'являються відростки, у сфероехіноциту не тільки форма клітини стає більш сферичною, але й зростає число відростків на їх поверхні. ДЕ відрізняється від Д наявністю поодиноких і коротких відростків, які з'являються впродовж першої секунди після активації внаслідок тиску з середини на плазматичну мембрану активних філаментів. Зміна форми стимульованих тромбоцитів в основному зумовлена деполімеризацією мікротубулярного кільця та формування пучків мікрофіламентів актину. Скорочення актоміозину завершує ланку реакцій скорочення та зумовлює певне зменшення об'єму СЕ.

Форма тромбоциту та її зміни є проявом функціонального стану клітини. Дискоїдна форма спостерігається при інтактному стані тромбоциту, але і такі тромбоцити мають здатність до обмеженого числа реакцій. Вони можуть взаємодіяти з колагеном пошкоджених судин та включатися в контактну фазу адгезії до субендотеліальних структур. Активування фактора XI під впливом колагену теж відбувається на поверхні Д, без зміни його форми. Таким чином Д, який нездатний до безпосереднього розвитку агрегації, секреції, ретракції, може піддаватися рецепторній

мембранній активації та 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, який вивільняється з еритроциту. Цьому процесу протидіє простоциклін.

З появою ДЕ збігається розвиток вираженої гемостатичної активності тромбоцитів: ДЕ здатні як до вираженої адгезії, так і до агрегації, що зумовлене з 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 (впродовж однієї секунди) стимуляцією каталітичних властивостей фосфоліпідів плазматичної мембрани, що призводить до генерації фактора Ха та тромбіну. В подальшому при утворенні значної кількості СЕ агрегаційна активність дещо знижується та починає розвиватися рефрактерність клітини, яка максимумно виражена в СЕ.

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

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Детермінантно-основана класифікація тяжкості гострого панкреатиту (Міжнародний мультидисциплінарний консиліум) (українська версія) / С.М. Чуклін, Р. Dellinger, С.Е. Forsmark [et al.] // Шпитальна хірургія. — 2015. — № 1. — С. 10—18.
2. Мальцева Л.О. Острые панкреатиты / Л.О. Мальцева, О.Б. Кутувий, Ю.Ю. Кобеляцький. — Дніпропетровськ: Лізунов Прес. —2014. — С. 192.
3. Морфологическая оценка повышенной внутрисосудистой активации тромбоцитов. (Методические рекомендации) / А.С. Шитикова, Р.Д. Каргин, О.Е. Беляз [и др.] — Санкт-Петербург, 1996. —17 с.
4. Протоколы диагностики и лечения острого панкреатита / Багненко С.Ф. Толстой А.Д., Краснорогов В.Б. [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. — 2006. — Т. 11, № 1. — С. 60—66.
5. Стандарти діагностики і лікування гострого панкреатиту / С.П. Коновалов, В.П. Терлецький, Г.Г. Рошчін [та ін.] (Методичні рекомендації). — Київ, 2005. — 27 с.
6. Cruz-Santamaria D.M. Update on pathogenesis and clinical management of acute pancreatitis / D.M. Cruz-Santamaria, C. Taxonera, M. Iner // World J Gastrointest. Pathophysiol. — 2012. — Vol. 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

В.Я. PIDHIRNYI

Lviv Regional Clinical Hospital, Lviv

FUNCTIONAL STATUS OF PLATELETS IN PATIENTS WITH ACUTE PANCREATITIS

In this article we analyzed morphological and functional status of platelets as part of vascular haemostasis in patients with moderate acute pancreatitis. It's shown that total amount of inactive platelets in patients with moderate acute pancreatitis decreases already on initial phase of the disease.

Total amount of active forms of platelets was 23,8% (N = 7,9-17,7%).

Key words: pancreatitis, vascular-platelet haemostasis

Стаття надійшла до редакції: 05.04.2016 р.