

© Коллектив авторов, 2009
УДК 616.411-001-089-06:611.018.52

В.В.Масляков, В.Ф.Киричук, А.Н.Васильев

АГРЕГАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ И ИХ РЕЦЕПТОРНЫЙ АППАРАТ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ ПОСЛЕ РАЗЛИЧНЫХ ОПЕРАЦИЙ НА ПОВРЕЖДЕННОЙ СЕЛЕЗЕНКЕ

Кафедра хирургии (нач. — проф. Д.А.Александров) Саратовского военно-медицинского института; кафедра нормальной физиологии (зав. — проф. В.Ф.Киричук) Саратовского государственного медицинского университета

Ключевые слова: тромбоциты, агрегация, рецепторный аппарат, селезенка, операции.

Введение. Селезенка не относится к жизненно важным органам, однако ей принадлежат ряд важных функций. Одна из таких функций — участие в процессе кроветворения [1]. Установлено, что удаление селезенки приводит к изменениям тромбоцитов в периферической крови как в ближайшем, так и в отдаленном послеоперационном периоде, проявляющимся развитием тромбоцитоза. Изучение агрегационных способностей тромбоцитов после различных операций на травмированной селезенке показали, что удаление этого органа приводит к повышению агрегационной способности тромбоцитов, что ведет к нарушению микроциркуляции и склонности к образованию тромбов в отдаленном послеоперационном периоде. Избежать данного осложнения можно с помощью органосохраняющих операций [4, 5]. Вместе с тем, изучению изменений состава углеводного компонента гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов в зависимости от выполненной операции на травмированной селезенке в доступной литературе уделяется мало внимания.

Цель исследования — изучить агрегационную активность тромбоцитов, а также изменения состава углеводного компонента гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов у пациентов после спленэктомии, аутолиентрансплантации и органосохраняющих операций в отдаленном послеоперационном периоде.

Материал и методы. Изучение агрегационной активности тромбоцитов и состава углеводного компонента

гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов проведено у 126 человек, перенесших операции на травмированной селезенке в сроки больше одного года, из них — 26 обследованных после органосохраняющих операций (ОСО) с применением лазерной техники, 46 — после аутолиентрансплантации, 54 — спленэктомии. Группу сравнения составили 50 относительно здоровых людей того же возраста и пола.

Агрегацию тромбоцитов определяли с использованием стандартного турбидиметрического метода [2], с применением двухканального лазерного анализатора агрегации тромбоцитов 230 LA «BIOLA», при помощи IBM-совместимого компьютера и специальной MS Windows-совместимой программы «Аддг» (НПФ «Биола», Россия). Данный метод основан на анализе флюктуаций светопропускания плазмы или суспензий, вызванных случайными изменениями числа тромбоцитов и их агрегатов в тонком лазерном оптическом канале. Нулевым образцом явился образец плазмы, бедный тромбоцитами, которую получали путем центрифугирования богатой тромбоцитами плазмы в течение 15 мин при скорости вращения центрифуги 3000 об./мин. Градуированным образцом служила плазма, богатая тромбоцитами, до добавления к ней индуктора агрегации тромбоцитов. Богатую тромбоцитами плазму получали путем центрифугирования цельной крови в течение 7 мин при скорости вращения центрифуги 1000 об./мин. После центрифугирования богатая тромбоцитами плазма отбиралась в сухую полипропиленовую пробирку и в дальнейшем использовалась для определения агрегации тромбоцитов в обеих пробах. В качестве индуктора агрегации тромбоцитов использовался АДФ фирмы «Биохиммак» в конечной концентрации 2,5 мкМ.

Индукторами агрегации отмытых тромбоцитов были растительные лектины — конканавалин А (Con A), который обладает сродством к следующим моносахаридам: D-миннозе, глюкозе, N-ацетил-D-глюкозамину. Лектин зародышей пшеницы (WGA) связывает N-ацетил-D-глюкозамины и N-ацетилнейраминовые кислоты и лектин семян фасоли обыкновенной (PHA-P), который взаимодействует почти со всеми гликопротеинами, поэтому его можно считать общим реагентом на гликопротеины, хотя преимущественно свя-

зывается с участками, содержащими D-галактозу (фирма «Лектинотест», Украина). При исследовании агрегации к 300 мкл отмытых тромбоцитов после минутного термостатирования при 37 °С добавляли Con A, WGA и РНА-Р по 10 мкл в концентрации 32 мкг/мл [3].

Полученные в исследованиях данные подвергались статистической обработке на ПЭВМ с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0.473.0». Значимость различий двух совокупностей оценивали с использованием критериев Стьюдента—Фишера, χ^2 -квадрат, Манна—Уитни. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования, полученные в группе больных, представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, изменений в показателях, характеризующих агрегацию тромбоцитов в группе больных с сохраненной селезенкой, не происходит, так как они не отличаются от результатов, полученных в группе практически здоровых людей.

У больных с повреждениями селезенки в отдаленном послеоперационном периоде после аутолиентрансплантации показатели, характеризующие способность к агрегации, статистически достоверно не отличались от данных практически здоровых людей группы сравнения.

Неудовлетворительные результаты отмечены в группе больных с удаленной селезенкой (см. табл. 1): происходит статистически достоверное увеличение максимальной скорости агрегации тромбоцитов, максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегатов, что характеризует их повышенную агрегационную активность.

Увеличение способности тромбоцитов к агрегации, несомненно, ведет к нарушению микро-

циркуляции и склонности к образованию тромбов в отдаленном послеоперационном периоде. Эти данные подтверждаются ранее проведенными исследованиями, в которых описана склонность больных к тромбоэмболическим осложнениям в отдаленном послеоперационном периоде в случае удаления селезенки. С целью профилактики подобных осложнений, исходя из представленных данных, следует чаще применять органосохраняющие операции, а при невозможности выполнения таких вмешательств спленэктомии следует дополнять аутолиентрансплантацией.

Результаты индуцированной агрегации тромбоцитов фитогемагглютинином Р (РНА-Р), лектином зародышей пшеницы (WGA) и конканавалинам А (Con A) в дозе 32 мкг/мл у 26 пациентов после органосохраняющих операций представлены в табл. 2–4.

Данные, представленные в табл. 2–4, показывают, что фитогемагглютинин Р (РНА-Р), лектин зародышей пшеницы (WGA) и конканавалин А (Con A) в дозе 32 мкг/мл индуцируют агрегацию тромбоцитов как у практически здоровых людей, так и у пациентов после органосохраняющих операций на селезенке, о чем свидетельствует наличие в агрегатограмме таких показателей агрегации тромбоцитов, как максимальная степень их агрегации, время достижения максимальной степени агрегации, максимальная скорость агрегации тромбоцитов, время достижения максимальной скорости образования тромбоцитарных агрегатов. Причем, наибольшее значение эти показатели имеют при использовании в качестве индуктора агрегации фитогемагглютинаина Р, меньшее — лектина зародышей пшеницы (WGA). Наименьшее

Таблица 1

Агрегационная активность тромбоцитов у больных после различных операций при повреждениях селезенки ($M \pm m$)

Показатели	Группа сравнения (n=50)	После органосохраняющих операций (n=26)	После аутолиентрансплантации (n=46)	После спленэктомии (n=54)
Максимальная степень агрегации, %	33,2±0,1	32,2±0,1	36,2±0,1	46,2±0,3*
Максимальная скорость агрегации, %/мин	9,4±2	9,5±2	9,7±2,1	16,4±0,4*
Время достижения максимальной скорости агрегации, мин	26,8±0,3	26,8±0,3	29,8±0,3	35,4±0,5*
Максимальный размер образующихся тромбоцитарных агрегатов, у.е.	7,3±1	7,4±1	8,6±1	9,6±1,2*
Время достижения максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегатов, мин	9,3±0,5	12,3±0,6	11,3±0,5	18,4±0,6*
Время достижения максимальной скорости образования наименьших тромбоцитарных агрегатов, мин	12,3±6	12,6±0,6	14,3±0,6	20,3±0,8

* Достоверность различий с группой сравнения, $p < 0,05$.

Таблица 2

Показатели агрегации тромбоцитов, индуцированной РНА-Р, у пациентов после операций при повреждении селезенки (M±m)

Показатели	Группа сравнения (n=50)	После органосохраняющих операций (n=26)	После аутолиентрансплантации (n=46)	После спленэктомии (n=54)
Максимальная степень агрегации, %	32,4±0,2	32,2±0,3	33,5±0,4	37,6±0,3
Время достижения максимальной степени агрегации, с	251,5±0,3	251,2±0,2	252,3±0,4	260,1±0,2
Максимальная скорость агрегации, %/мин	27,1±0,1	26,9±0,2	27,7±0,1	30,2±0,1
Время достижения максимальной скорости агрегации, с	48,8±0,1	47,9±0,1	48,9±0,2	50,6±0,3

Таблица 3

Показатели агрегации тромбоцитов, индуцированной WGA, у пациентов после операции при повреждениях селезенки (M±m)

Показатели	Группа сравнения (n=50)	После органосохраняющих операций (n=26)	После аутолиентрансплантации (n=46)	После спленэктомии (n=54)
Максимальная степень агрегации, %	12,28±0,1	12,29±0,3	12,38±0,2	15,19±0,3
Время достижения максимальной степени агрегации, с	129,3±0,4	130,2±0,2	135,1±0,1	138,1±0,4
Максимальная скорость агрегации, %/мин	6,05±0,4	6,08±0,3	6,09±0,2	8,06±0,4
Время достижения максимальной скорости агрегации, с	45,8±0,2	46,1±0,1	47,1±0,3	49,6±0,4

значение указанных показателей агрегатограмм наблюдается при использовании как агреганта конканавалина А (Con A). Полученные результаты у пациентов после органосохраняющих операций на селезенке достоверно не отличались от полученных в группе сравнения.

Некоторые изменения в агрегатограмме были выявлены у пациентов после аутолиентрансплантации (см. табл. 2–4).

Из данных, представленных в табл. 2 и 4, видно, что у пациентов после аутолиентрансплантации в отдаленном послеоперационном периоде после индукции агрегации тромбоцитов лектинами РНА-Р и Con A результаты соответствовали дан-

ным, полученным в группе относительно здоровых людей. В то же время, отмечается статистически достоверное ($p < 0,05$) увеличение показателей агрегации тромбоцитов, индуцированной WGA (см. табл. 4). Отсюда следует, что у пациентов после аутолиентрансплантации в отдаленном послеоперационном периоде происходит увеличение гликопротеиновых рецепторов мембран тромбоцитов N-ацетил-D-глюкозамином и N-ацетил-нейраминовой (сиаловой) кислоты.

Значительные изменения в агрегатограмме выявлены у пациентов после спленэктомии (см. табл. 2–4). В отдаленном послеоперационном периоде после спленэктомии отмечается увеличение

Таблица 4

Показатели агрегации тромбоцитов, индуцированной Con A, у пациентов после операций при повреждениях селезенки (M±m)

Показатели	Группа сравнения (n=50)	После органосохраняющих операций (n=26)	После аутолиентрансплантации (n=46)	После спленэктомии (n=54)
Максимальная степень агрегации, %	7,2±0,2	7,1±0,3	7,2±0,3	9,1±0,1
Время достижения максимальной степени агрегации, с	150,3±0,1	150,2±0,2	150,4±0,2	164,2±0,2
Максимальная скорость агрегации, %/мин	4,22±0,1	4,23±0,3	4,23±0,4	5,20±0,3
Время достижения максимальной скорости агрегации, с	44,8±0,1	45,7±0,1	43,8±0,3	49,8±0,1

всех показателей агрегатограммы индуцированными лектинами WGA, Con A, PNA-P, т.е. усиление процесса агрегации тромбоцитов у больных после удаления селезенки обусловлено возрастанием содержания в углеводном компоненте гликопротеиновых рецепторов, содержащих D-маннозу, N-ацетил-D-глюкозамины, D-галактору, N-ацетил-D-глюкозамины и N-ацетилнейраминную кислоту.

Выводы. 1. Использование органосохраняющих операций и аутолиентрансплантации при повреждениях селезенки не влияет на изменения агрегационных свойств тромбоцитов в отдаленном послеоперационном периоде. Процесс агрегации тромбоцитов в основном обеспечивается содержанием в углеводном компоненте их гликопротеиновых рецепторов D-галактозы. Меньшее значение в механизме агрегации кровяных пластинок имеет наличие в углеводном остатке рецепторов N-ацетил-D-глюкозамина и N-ацетил-нейраминной (сиаловой) кислоты. Роль маннозы в рецепторах тромбоцитов в процессе их агрегации незначительна. Полученные результаты в данной группе соответствовали данным, полученным в группе сравнения.

2. У пациентов, спленэктомия которым была дополнена аутолиентрансплантацией, в отдаленном периоде в углеводном компоненте гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов отмечается увеличение содержания N-ацетил-D-глюкозамина, N-ацетил-нейраминной (сиаловой) кислоты, в то же время содержание других рецепторов соответствовало показателям, полученным в группе сравнения.

3. Удаление селезенки по поводу ее травмы приводит к повышению агрегационной способности тромбоцитов за счет повышения гликопротеиновых рецепторов, содержащих D-маннозу,

N-ацетил-D-глюкозамины, D-галактозу, N-ацетил-D-глюкозамины, N-ацетилнейраминную кислоту, а также D-галактозу. Это ведет к нарушению микроциркуляции и склонности к образованию тромбов в отдаленном послеоперационном периоде.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Барта И. Физиология селезенки // Селезенка.—М.: Медицина, 1976.—С. 5–40.
2. Габбасов З.А., Попов Б.Г., Гаврилов И.Ю. и др. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов // Лаб. дело.—1989.—№ 10.—С. 15–18.
3. Лахтин В.М. Молекулярная организация лектинов // Биохимия.—1994.—Т. 28.—С. 245–273.
4. Масляков В.В. Физиологическое обоснование различных видов хирургических вмешательств при травме селезенки: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.—Саратов, 2007.—22 с.
5. Шапкин Ю.Г., Киричук В.Ф., Масляков В.В. Изменения тромбоцитарного звена гемостаза у больных, оперированных на травмированной селезенке // Анн. хир.—2005.—№ 4.—С. 50–53.

Поступила в редакцию 14.11.2008 г.

V.V.Maslyakov, V.F.Kirichuk, A.N.Vasiliev

AGGREGATIVE ABILITY OF THROMBOCYTES AND THEIR RECEPTOR APPARATUS AT A DISTANT PERIOD AFTER DIFFERENT OPERATIONS ON THE INJURED SPLEEN

The aggregative ability of thrombocytes and the composition of the carbohydrate component of the thrombocyte glycoprotein receptors were studied in 126 patients after operations on the injured spleen within the terms of more than one year. It was found that organ-sparing operations and autolientransplantation in the injured spleen did not influence the changes of the thrombocyte aggregative properties at a remote postoperative period. Splenectomy results in an increased aggregative ability of thrombocytes at the expense of increased number of glycoprotein receptors containing D-mannose, N-acetyl-D-glucosamines, D-galactose, N-acetyl-D-glucosamines, N-acetylneuraminic acid and D-galactose.