



# Изменения агрегации тромбоцитов у больных, оперированных с травмой селезёнки, в отдалённом послеоперационном периоде

**В.В. Масляков, В.Г. Барсуков**

НОУ ВПО «Саратовский медицинский институт «РЕАВИЗ»,  
кафедра клинической медицины, г.Саратов, Российская Федерация

Проведено изучение изменения агрегации тромбоцитов у 85 пациентов, оперированных по поводу закрытой травмы селезёнки, в отдалённые послеоперационные сроки. Из них 35 пациентам выполнена спленэктомия, 20 – органосохраняющие операции с применением CO<sub>2</sub>-лазера, 30 больным спленэктомия дополнена аутолиентрансплантацией.

Агрегацию тромбоцитов определяли с использованием стандартного тубодиаметрического метода с применением двухканального лазерного анализатора агрегации. Установлено, что у пациентов, ранее перенёвших спленэктомию, развиваются нарушения агрегации тромбоцитов – повышение агрегационной способности, что ведёт к нарушению микроциркуляции и склонности к образованию тромбов.

Использование органосохраняющих операций и аутолиентрансплантации при травматических повреждениях селезёнки не влияет на изменения агрегационных свойств тромбоцитов в отдалённом послеоперационном периоде.

**Ключевые слова:** селезёнка, спленэктомия, аутолиентрансплантация, органосохраняющие операции, агрегация тромбоцитов

**Введение.** Селезёнка является одним из важных органов, принимающих участие в кроветворении [1-3]. Однако при травматических её повреждениях хирурги вынуждены прибегать, чаще всего, к спленэктомии, реже – к аутолиентрансплантации и органосохраняющим операциям. Известно, что удаление селезёнки влечёт изменения в системе гемостаза. Так, спленэктомия в отдалённом периоде приводит к нарушениям агрегационной активности тромбоцитов, проявляющимся снижением их агрегационной способности [4-7]. В то же время, изменения агрегации тромбоцитов после аутолиентрансплантации и органосохраняющих операций остаются малоизученными.

**Целью нашего исследования** явилось изучение агрегационной активности тромбоцитов, а так же изменения состава углеводного компонента гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов у пациентов после спленэктомии, аутолиентрансплантации и органосохраняющих операций в отдалённом послеоперационном периоде.

**Материал и методы.** Обследовано 85 пациентов, оперированных по поводу закрытой травмы селезёнки. С момента хирургического вмешательства

прошло не менее одного года. Возраст обследованных колебался от 20 до 50 лет. Средний возраст составил  $43,5 \pm 3,0$  года. Мужчин было 65, женщин – 20. Из них 35 пациентам выполнена спленэктомия, 20 – органосохраняющие операции (ОСО) с применением CO<sub>2</sub>-лазера, 30 больным спленэктомия дополнена аутолиентрансплантацией, путём пересадки кусочков селезёнки размером 1,5 см<sup>3</sup> в ткань большого сальника. Группу сравнения составили 30 относительно здоровых лиц того же возраста.

Забор крови осуществляли в амбулаторных условиях, из кубитальной вены, в количестве 10 мл с добавлением 3,8% раствора цитрата натрия в соотношении 9:1.

Агрегацию тромбоцитов определяли с использованием стандартного тубодиаметрического метода по Габбасову З.А. и соавт. [8], 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 флуктуаций светопропускания плазмы или суспензий, вызванных случайными изменениями числа тромбоцитов и их



агрегатов в тонком лазерном оптическом канале. Нулевым явился образец плазмы, бедной тромбоцитами, которую получали путём центрифугирования богатой тромбоцитами плазмы в течение 15 минут при скорости вращения центрифуги 3000 оборотов/мин. Градуированным образцом служила плазма, богатая тромбоцитами, до добавления к ней индуктора агрегации тромбоцитов. Богатую тромбоцитами плазму получали путём центрифугирования цельной крови в течение 7 минут при скорости вращения центрифуги 1000 оборотов/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.

Для исследования использовали объём плазмы 0,25 мл при стандартных условиях термостатирования (37°C) и скорости вращения машинной мешалки 1000 оборотов/мин. Длительность регистрации процесса составляла 14 мин 52 сек.

Учитывались следующие показатели светопропускания:

1. Максимальная степень агрегации тромбоцитов – отношение оптической плотности на высоте агрегации тромбоцитов к исходной оптической плотности, выраженной в %.
2. Максимальная скорость агрегации тромбоцитов – максимальный наклон кривой светопропускания, измеряется в %/мин.
3. Время достижения максимальной скорости агрегации (в сек.).

Определение параметров агрегации по кривой среднего размера агрегантов:

1. Максимальный размер тромбоцитарных агрегантов – максимальное значение среднего размера агрегантов после добавления индуктора, измеряется в относительных единицах.
2. Время достижения максимального размера тромбоцитарных агрегантов, выраженное в секундах.
3. Время достижения наибольших тромбоцитарных агрегантов (сек).

Индукторами агрегации отмытых тромбоцитов были растительные лектины: конканавалин А (Con A), который обладает сродством к следующим моносахаридам: D-маннозе, глюкозе, N-ацетил-D-глюкозамину. Лектин зародышей пшеницы (WGA) связывает N-ацетил-D-глюкозамин и N-ацетилнейраминные кислоты и лектин семян фасоли обыкновенной (PHA-P), который взаимодействует почти со всеми гликопротеинами, поэтому его можно считать общим реагентом на гликопротеины, хотя преимущественно связывается с участками, содержащими bD-галактозу (фирма «Лектинотест», Украина). При исследовании агрегации, к 300 мкл отмытых тромбоцитов после минутного термостатирования при 37°C добавляли Con A, WGA и PHA-P по 10 мкл в концентрации 32 мкг/мл [4].

Полученные в исследованиях данные подвергались статистической обработке на ПЭВМ с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0.473.0». Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Данные исследования, полученные в группе больных с сохранённой селезёнкой, представлены в таблице 1.

**ТАБЛИЦА 1. АГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ТРАВМАТИЧЕСКИМИ ПОВРЕЖДЕНИЯМИ СЕЛЕЗЁНКИ ПОСЛЕ ОРГАНОСОХРАНЯЮЩИХ ОПЕРАЦИЙ ( $M \pm m$ )**

| Показатели                                                                                    | Группа сравнения (n=30) | Больные, перенёвшие органосохраняющие операции (n=20) | p      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------------------------------------|--------|
| Максимальная степень агрегации, %                                                             | 33,2±0,1                | 32,2±0,1                                              | p>0,05 |
| Максимальная скорость агрегации, %/мин.                                                       | 9,4±2,0                 | 9,5±2,0                                               | p>0,05 |
| Время достижения максимальной скорости агрегации, мин.                                        | 26,8±0,3                | 26,8±0,3                                              | p>0,05 |
| Максимальный размер образующихся тромбоцитарных агрегантов, у.е.                              | 7,3±1,0                 | 7,4±1,0                                               | p>0,05 |
| Время достижения максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегантов, сек.           | 9,3±0,5                 | 12,3±0,6                                              | p>0,05 |
| Время достижения максимальной скорости образования наименьших тромбоцитарных агрегантов, сек. | 12,3±0,6                | 12,6±0,6                                              | p>0,05 |

**Примечание:** p – статистическая значимость различий с группой сравнения



Как видно из представленных данных в таблице 1, изменений в показателях, характеризующих агрегацию тромбоцитов в группе больных, с сохранённой селезёнкой не происходит, так как они не отличаются от результатов, полученных в группе практически здоровых людей.

Результаты исследования в группе пациентов после аутолиентрансплантации представлены в таблице 2.

Как видно из данных таблицы 2, у больных с травматическими повреждениями селезёнки в отдалённом послеоперационном периоде после аутолиентран-

сплантации показатели, характеризующие способность к агрегации, статистически достоверно не отличались от данных практически здоровых людей группы сравнения.

Неудовлетворительные результаты отмечены в группе больных с удалённой селезёнкой (табл. 3): происходит статистически достоверное увеличение максимальной скорости агрегации тромбоцитов, максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегантов, что характеризует их повышенную агрегационную активность.

**ТАБЛИЦА 2. АГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ТРАВМАТИЧЕСКИМИ ПОВРЕЖДЕНИЯМИ СЕЛЕЗЁНКИ ПОСЛЕ АУТОЛИЕНТРАНСПЛАНТАЦИИ ( $M \pm m$ )**

| Показатели                                                                                    | Группа сравнения (n=30) | Больные, перенесшие аутолиентрансплантацию (n=30) | p      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------------------------------|--------|
| Максимальная степень агрегации, %                                                             | 33,2±0,1                | 36,2±0,1                                          | p>0,05 |
| Максимальная скорость агрегации, %/мин.                                                       | 9,4±2,0                 | 9,7±2,1                                           | p>0,05 |
| Время достижения максимальной скорости агрегации, мин                                         | 26,8±0,3                | 29,8±0,3                                          | p>0,05 |
| Максимальный размер образующихся тромбоцитарных агрегантов, у.е.                              | 7,3±1,0                 | 8,6±1,0                                           | p>0,05 |
| Время достижения максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегантов, сек.           | 9,3±0,5                 | 11,3±0,5                                          | p>0,05 |
| Время достижения максимальной скорости образования наименьших тромбоцитарных агрегантов, сек. | 12,3±0,6                | 14,3±0,6                                          | p>0,05 |

*Примечание:* p – статистическая значимость различий с группой сравнения

**ТАБЛИЦА 3. АГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ С ТРАВМАТИЧЕСКИМИ ПОВРЕЖДЕНИЯМИ СЕЛЕЗЁНКИ ПОСЛЕ СПЛЕНЭКТОМИИ ( $M \pm m$ )**

| Показатели                                                                                    | Группа сравнения (n=30) | После спленэктомии (n=35) | p      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------|
| Максимальная степень агрегации, %                                                             | 33,2±0,1                | 46,2±0,3                  | p<0,05 |
| Максимальная скорость агрегации, %/мин.                                                       | 9,4±2,0                 | 16,4±0,4                  | p<0,05 |
| Время достижения максимальной скорости агрегации, мин.                                        | 26,8±0,3                | 35,4±0,5                  | p<0,05 |
| Максимальный размер образующихся тромбоцитарных агрегантов, у.е.                              | 7,3±1,0                 | 9,6±1,2                   | p<0,05 |
| Время достижения максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегантов, сек.           | 9,3±0,5                 | 18,4±0,6                  | p<0,05 |
| Время достижения максимальной скорости образования наименьших тромбоцитарных агрегантов, сек. | 12,3±0,6                | 20,3±0,8                  | p<0,05 |

*Примечание:* p – статистическая значимость различий с группой сравнения



При исследовании гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов у пациентов после ОСО, установлено, 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 селезёнке, о чём 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 агрегантов. Причём, наибольшее значение эти показатели имеют при использовании в качестве индуктора агрегации фитогемагглютинаина Р, меньшее – лектина зародышей пшеницы (WGA). Наименьшее значение указанных показателей агрегатограмм наблюдается при использовании как агрегата – конканавалина А (Con A). Полученные данные у пациентов после органосохраняющих операций на селезёнке были идентичны данным, полученным в группе сравнения.

Несколько хуже оказались результаты, полученные в группе больных, которым спленэктомию дополнили аутолиентрансплантацией. В этой группе пациентов отмечается статистически достоверное увеличение лишь некоторых исследуемых показателей, в том числе: максимальной степени агрегации, времени достижения максимальной скорости агрегации, времени достижения максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегантов, а также времени достижения максимальной скорости образования наибольших тромбоцитарных агрегантов. В то же время, выявлено отсутствие изменений в таких показателях агрегатограммы, как максимальная скорость агрегации, максимальный размер образующихся тромбоцитарных агрегантов. Представленные данные свидетельствуют о том, что у данной категории пациентов имеется наклонность к увеличению функциональной активности тромбоцитов, что, при определенных условиях, может привести к усилению тромбообразования.

Некоторые изменения в агрегатограмме были выявлены при исследовании гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов у пациентов после аутолиентрансплантации. Так, после индукции агрегации тромбоцитов лектинами РНА-Р и ConA, полученные результаты соответствовали данным в группе относительно здоровых людей. В тоже время, отмечается статистически достоверное увеличение показателей агрегации тромбоцитов, индуцированной WGA. Отсюда следует, что у пациентов после аутолиентрансплантации в отдалённом послеоперационном периоде происходит увеличение гликопротеиновых рецепторов мембран тромбоцитов N-ацетил-D-глюкозаминовой и N-ацетил-нейраминовой (сиаловой) кислоты.

Увеличение способности тромбоцитов к агрегации, несомненно, ведёт к нарушению микроциркуляции и склонности к образованию тромбов в отдалённом послеоперационном периоде. Отсюда следует, что пациенты после спленэктомии в отдалённом послеоперационном периоде составляют группу риска по тромбоэмболическим осложнениям.

Выраженные изменения показателей агрегации установлены в группе лиц, ранее перенёсших спленэктомию. Отмечено, что в этой группе больных происходит статистически достоверное увеличение максимальной степени агрегации тромбоцитов, максимальной скорости их агрегации, максимального размера образующихся тромбоцитарных агрегантов, что свидетельствует об их повышенной агрегационной активности. При изучении показателей, характеризующих гликопротеиновые рецепторы тромбоцитов, отмечается увеличение всех показателей агрегатограммы, индуцированными лектинами WGA, ConA, РНА-Р, то есть усиление процесса агрегации тромбоцитов у больных после удаления селезёнки обусловлено возрастанием содержания в углеводном компоненте гликопротеиновых рецепторов, содержащих D-маннозу, D-галактозу, N-ацетил-D-глюкозамины и N-ацетилнейраминовую кислоту.

Эти данные подтверждаются ранее проведёнными исследованиями, в которых описана склонность больных к тромбоэмболическим осложнениям в отдалённом послеоперационном периоде, в случае удаления селезёнки [4,8]. С целью профилактики подобных осложнений, исходя из представленных данных, следует чаще применять органосохраняющие операции, а при невозможности выполнения таких вмешательств, спленэктомию следует дополнять аутолиентрансплантацией.

## ВЫВОДЫ:

1. Использование органосохраняющих операций и аутолиентрансплантации при травматических повреждениях селезёнки не влияет на изменения агрегационных свойств тромбоцитов в отдалённом послеоперационном периоде.
2. Применение аутолиентрансплантации позволяет снизить риск развития тромбоэмболических осложнений у больных с травмированной селезёнкой в отдалённом послеоперационном периоде.
3. Удаление селезёнки, по поводу её травмы, приводит к повышению агрегационной способности тромбоцитов, что ведёт к нарушению микроциркуляции и склонности к образованию тромбов в отдалённом послеоперационном периоде.



## ЛИТЕРАТУРА

1. Габбасов З.А. Новый высокочувствительный метод анализа агрегации тромбоцитов / З.А.Габбасов [и др.] // Лабораторное дело, 1989. - № 10. - С. 15 - 18.
2. Шапкин В.В. Лечебная тактика при закрытой травме селезенки у детей / В.В.Шапкин [и др.] // Детская хирургия. - 2004. - №1. - С. 27 - 31.
3. Шапкин Ю.Г. Изменения тромбоцитарного звена гемостаза у больных, оперированных на травмированной селезенке / Ю.Г.Шапкин, В.Ф.Киричук, В.В.Масляков // Анналы хирургии. - 2005. - №4. - С. 50 - 53.
4. Шапкина А.Н. Лечение детей с закрытой травмой селезенки: 18-летний опыт / А.Н.Шапкина, В.В.Шапкин // Детская хирургия. - 2009. - №6. - С. 4 - 6.
5. Chambon J.P. Management of splenectomized patients / J.P.Chambon [et al.] // Presse Med. - 2003. - Sep. 6; 32 (28 Suppl): S. 20-3.
6. Gorg C. Spontaneous rupture of the spleen: ultrasound patterns, diagnosis and follow-up / C.Gorg [et al.] // Br J Radiol. 2009; 76(910): 704-11.
7. Ragsdal T.H. Splenectomy versus splenic salvage for spleen ruptured by blunt trauma / T.H.Ragsdal, H.F.Hamit // Amer. Surg., 2004. - Vol. 50. - № 12. - P. 645-648.
8. Siuger D. Post-splenectomy sepsis in pediatric pathology // Chicago, Year Book Med., 2006. - P. 235-311.

## Summary

## Changes in platelet aggregation in patients operated for spleen injury in remote postoperative period

V.V. Maslyakov, V.G. Barsukov

NSEIHP (Non-state Educational Institution of Higher Professional Education)

«Saratov Medical Institute» REAVIZ («Rehabilitation, Doctor and Health»)

Chair of Clinical Medicine, Saratov, Russia

The study of changes in platelet aggregation in 85 patients in remote postoperative periods operated on for spleen blunt trauma is conducted. Of them, 35 patients underwent splenectomy, 20 – preserving surgery using a CO2 laser, for 30 patients splenectomy is completed with autolientransplantation.

Platelet aggregation was measured with standard turbidimetric bi-laser method using aggregation analyzer. Found that in patients who previously underwent splenectomy develop platelet aggregation disorders – aggregating capacity increase, leading to microcirculatory disturbances and a tendency to form blood clots. Using preserving surgery and autolientransplantation in traumatic injuries of the spleen does not influence the platelet aggregation changes in remote postoperative period.

**Key words:** spleen, splenectomy, autolientransplantation, preserving surgery, platelet aggregation, remote postoperative period

## АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

**Масляков Владимир Владимирович** – проректор по научной работе и связям с общественностью, заведующий кафедрой клинической медицины НОУ ВПО «Саратовский медицинский институт «РЕАВИЗ»;  
Российская Федерация, г.Саратов, ул. Дегтярная площадь, 1-а  
E-mail: maslyakov@inbox.ru