

ВИТАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТРОМБОЦИТОВ КАК КРИТЕРИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ДЕТОКСИКАЦИИ У БОЛЬНЫХ С ПАНКРЕОНЕКРОЗОМ

А.В. Ватазин¹, И.А. Василенко^{2,3}, А.М. Фомин¹, Л.В. Бельских¹, А.В. Матвеева²

¹ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского (МОНКИ)

²ОСП ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова «Российский геронтологический научно-клинический центр», Москва

³ФГБОУ ВПО Государственная классическая академия им. Маймонида, Москва

Проведен анализ эффективности комплексного лечения больных с панкреонекрозом, которым применяли методы экстракорпоральной гемокоррекции. Выявлены и оценены закономерности изменения морфофункционального состояния тромбоцитов при проведении обменного плазмафереза и полупродленной гемофильтрации в различные фазы патологического процесса. Предложены количественные критерии оценки эффективности эфферентной терапии у больных с панкреонекрозом в стадиях ферментативного шока и гнойных осложнений.

Ключевые слова: панкреонекроз, плазмаферез, полупродленная гемофильтрация, тромбоциты.

VITAL THROMBOCYTE INDICES AS CRITERIA OF THE DETOXIFICATION METHODS EFFICACY IN PATIENTS WITH PANCREONECROSIS

A.V. Vatazin¹, I.A. Vasilenko^{2,3}, A.M. Fomin¹, L.V. Belskikh¹, A.V. Matveyeva²

¹M.F. Vladimirsky Moscow Regional Clinical and Research Institute (MONIKI)

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University «Russian Gerontological Research and Clinical Center», Moscow

³Maimonides State Classical Academy, Moscow

Analysis of the complex treatment efficiency was carried out for patients with pancreonecrosis who also underwent extracorporeal hemocorrection. Alterations in the morphofunctional condition of platelets was revealed and assessed during replacement plasmapheresis and semiprolonged hemofiltration at different stages of pathological process. The quantitative criteria were proposed for assessment of efferent therapy efficiency in patients with pancreonecrosis at the stages of enzymatic shock and suppurative complications.

Key words: pancreonecrosis, plasmapheresis, semiprolonged hemofiltration, platelets.

Больные острым панкреатитом составляют 5-10% от общего числа пациентов хирургического профиля. Важной особенностью данного патологического процесса является формирование разнообразных по тяжести состояния и характеристике клинико-морфологических форм заболевания, широко варьирующих от интерстициального панкреатита до осложненных форм стерильного и инфицированного панкреонекроза [3, 4, 5, 8].

Для некротического панкреатита, в основе которого лежит местная воспалительная реакция на ферментную агрессию, характерно развитие системных нарушений. Грозным осложнением панкреонекроза является развитие ДВС-синдрома. Нарушения периферического кровообращения с развитием пролонгированной формы ДВС-синдрома существенно затруд-

няют тканевой метаболизм, усугубляют гипоксию, способствуют дистрофическим и некробиотическим процессам в органах и тканях. Поэтому к числу актуальных проблем неотложной панкреатологии относится круг вопросов, связанных с объективной оценкой степени тяжести состояния больного в динамике заболевания и эффективности комплексного лечения.

Как в фазе эндотоксемии и эндотоксического шока, так и при гнойных осложнениях, для коррекции указанных нарушений широко используют методы эфферентной терапии. Вместе с тем современная медицина располагает и селективными способами гемокоррекции, которые способны оказывать избирательное действие на основные звенья патогенеза целого ряда заболеваний, связанных с эндотоксемией, включая панкреонекроз [1, 6].

Известно, что важную роль в системе регуляции агрегатного состояния крови играют тромбоциты, отвечающие за начальный этап гемостаза. Широкий диапазон функциональной активности этих клеток предполагает их участие в обеспечении коагуляции, репарации сосудистой стенки, депонировании и транспорте биологически активных соединений, осуществлении защитных реакций организма [7]. В связи с этим изучение гетерогенности тромбоцитов при данном патологическом процессе с применением компьютерной цитометрии на фоне использования селективных методов гемокоррекции несомненно является актуальным и целесообразным.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проанализированы результаты комплексного обследования и лечения 80 больных (средний возраст – $43,9 \pm 5,2$ лет) острым деструктивным панкреатитом средней и тяжелой степени на ранней (ферментативной) и поздней (секвестрации и расплавления) фазах заболевания. Для определения показателей нормы обследована группа из 20 соматически здоровых лиц обоего пола (11 женщин и 9 мужчин) в возрасте от 22 до 54 лет (средний возраст – $47,8 \pm 4,6$ лет).

Больные панкреонекрозом в ферментативной фазе (50 человек) были разделены на две группы: 30 пациентов получали от 2 до 5 сеансов плазмафереза; 20 больных составили группу, которым плазмаферез не применялся. Сеансы прерывистого (дискретного) плазмафереза выполняли в условиях полной седации больного препаратами бензодиазепинового ряда. Определяли концентрационные показатели крови, обеспечивали как минимум два венозных доступа, мониторировали состояние пациента (САД, ЧСС, пульс, ЭКГ). Эффективность проводимого лечения оценивали по результатам гемостазиологических исследований и компьютерной морфометрии тромбоцитов периферической крови.

У 30 больных панкреонекрозом в фазе секвестрации наблюдалось прогрессирующее течение перитонита с гнойными осложнениями. Тяжесть полиорганной дисфункции по шкале APACHE II к началу лечения составляла $28,2 \pm 3,4$ балла, по шкале SOFA – $10,2 \pm 1,29$ балла, по шкале MODS – $13,2 \pm 1,91$ балла. Больные получали адекватную противошоковую терапию, эффективное обезболивание, средства для улучшения реологии крови и специфическую терапию липостабилем. Коррекцию иммунодефицита осуществляли гамма-глобулином, антистафилококковой плазмой, иммунофаном.

В этой группе 20 пациентам в комплекс лечебных процедур были включены операции полупродленной гемофильтрации в течение 10-12 часов на аппарате HygieaUltima фирмы KIMAL. Использовали гемофильтры AN69, замещающие растворы Primasol. Объем

субституата составлял $34,0 \pm 4,5$ л, скорость кровотока – 200-220 мл/мин, режим пост- и предилюции. Гипокоагуляцию осуществляли гепарином по общепринятой методике – 2000-2500 МЕ болюсом до начала гемофильтрации, далее 600-1000 МЕ/час в виде постоянной инфузии с прекращением подачи гепарина за 1 час до окончания гемофильтрации. В ходе процедуры оценку адекватности гипокоагуляции проводили по двум параметрам: времени активированного свертывания (ВАС) и активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ). Адекватной антикоагуляцией считали при значениях ВАС в пределах 180-200 с, АЧТВ – при 150-180% от исходного уровня.

При исследовании тромбоцитарного гемостаза использовали венозную кровь, которую заготавливали в пробирках из ареактивного пластика с антикоагулянтом (ЭДТА). Для приготовления плазмы, обогащенной тромбоцитами, кровь центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 минут.

Морфофункциональное состояние тромбоцитов периферической крови исследовали в режиме реального времени методом когерентной фазовой микроскопии (КФМ) с использованием модуля «БионикФМ» аппаратно-программного комплекса (АПК) для клинической и лабораторной диагностики с цифровой обработкой изображения (ООО «Весттрейд», Москва). В основе работы модуля лежит метод регистрации фазы света путем модуляции опорной волны, т.е. аппаратный способ интерферометрии. Источником когерентного излучения служил гелий-неоновый лазер с длиной волны $\lambda=650$ нм. Прибор обеспечивает измерение интегральных параметров фазовых микрообъектов с большой чувствительностью, а применение метода автоматизированной расшифровки интерферограмм позволяет достигнуть разрешающей способности измерения с оптической разностью хода (ОРХ) $\lambda/150$, где λ – длина волны излучения, при времени измерения – 30 с.

Взвесью клеток заполняли камеру Горяева, рабочая поверхность которой имеет зеркальное напыление. После 3-5-минутного интервала, необходимого для оседания клеток, проводили сканирование изучаемых цитообъектов. Оптимальный объем выборки составлял 50-100 клеток. Время измерения одного интерференционного поля размером 10×10 мкм ($m=n=128$ пикселей), соответствующего изображению одной клетки – 14 с. Результат обратного преобразования цифрового массива в видимое изображение и восстановление фазового портрета объекта отображались на экране компьютера. Результаты расчетов выводили на дисплей в виде таблицы параметров каждого объекта и серии графиков.

Статистический анализ выполняли с помощью алгоритмов среды MatLab и математического пакета Statistica 6. Стандартная обработка выборок включала

подсчет значений средних арифметических величин, ошибок средних, а также величины дисперсии, среднего квадратического отклонения и анализа асимметричности распределения. Различия между сравниваемыми группами рассчитывали по критериям Вилкоксона–Манна–Уитни или Стьюдента. Уровень значимости устанавливался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Система гемостаза является эволюционно сложившимся, многокомпонентным защитным приспособлением организма. Представляя собой

тонко сбалансированный механизм регуляции функционального состояния организма в целом, она неизбежно вовлекается в ответ на патологическое состояние, инициирующее развитие органной или, тем более, полиорганной недостаточности. В циркулирующей популяции тромбоцитов идентифицировали четыре основных морфологических типа, характеризующих ту или иную степень их активации [2]. Основой для дискриминации структурно измененных клеток служили различные варианты их формы, характера рельефа поверхности, наличие, количество и величина псевдоподий (рис. 1).

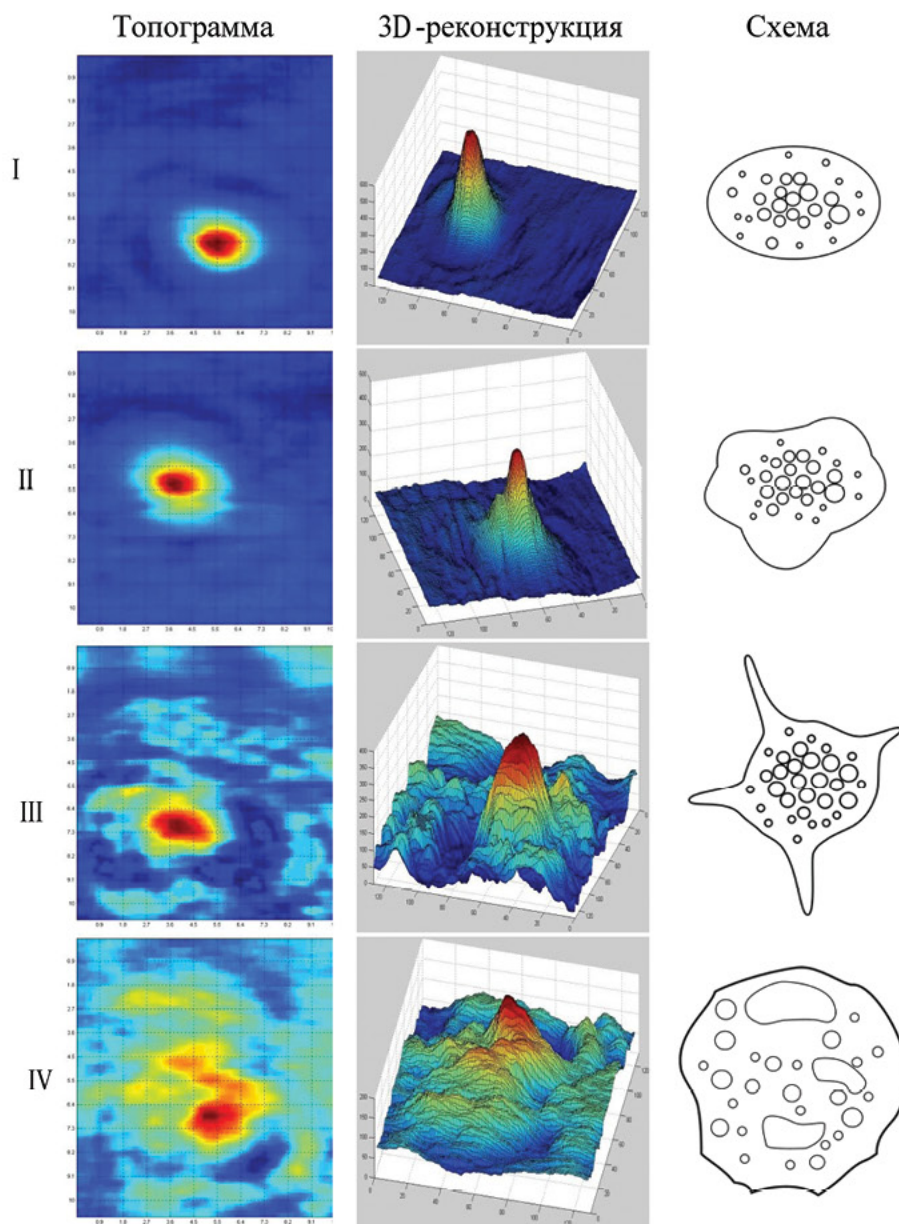


Рис. 1. Фазово-интерференционные портреты (топограммы и 3D-реконструкции) и схемы живых тромбоцитов периферической крови. I, II, III, IV – морфологические типы клеток

Плоские округлые клетки с гладкой или складчатой поверхностью — «гладкие» и «рифленые» дискоциты, соответствовали I типу. Ко II морфологическому типу тромбоцитов были отнесены клетки округлой или неправильной формы с гладкой или складчатой поверхностью и одним-тремя короткими (меньше диаметра клетки) отростками-псевдоподиями, являющимися выростами поверхностной мембраны. Клетки, имеющие около 2-5 длинных (больше диаметра клетки) отростков, представляли III тип и отличались большим многообразием форм: от плоских дисков до клеток неправильной формы. Тромбоциты неправильной формы с неровной бугристой поверхностью, большим количеством отростков различной длины и многочисленными вакуолями были отнесены к IV морфологическому типу — дегенеративно-измененным клеткам.

Гладкие и рифленые дискоциты являются так называемыми формами «покоя». Тромбоциты II-III

типов, отличающиеся появлением отростков различного числа и длины, а также изменением их формы, связанной с перестройкой цитоскелета и структуры грануломера, проявляют внешние признаки функциональной активности. Клетки IV типа — тромбоциты, исчерпавшие свой функциональный потенциал. Установлено, что в условиях физиологической нормы 63% тромбоцитов представлены клетками «покоя», 21% — тромбоцитами с низким уровнем активации (II тип). Количество высоко активированных клеток с длинными отростками-«антеннами» составляет 12% (III тип), а дегенеративно-измененных (IV тип) — 4%.

На рис. 2 представлена динамика показателей гемостаза у больных с панкреонекрозом в ферментативной фазе до и после курса плазмафереза. Исследования показали, что после проводимого лечения большинство показателей приблизилось к значениям нормы.

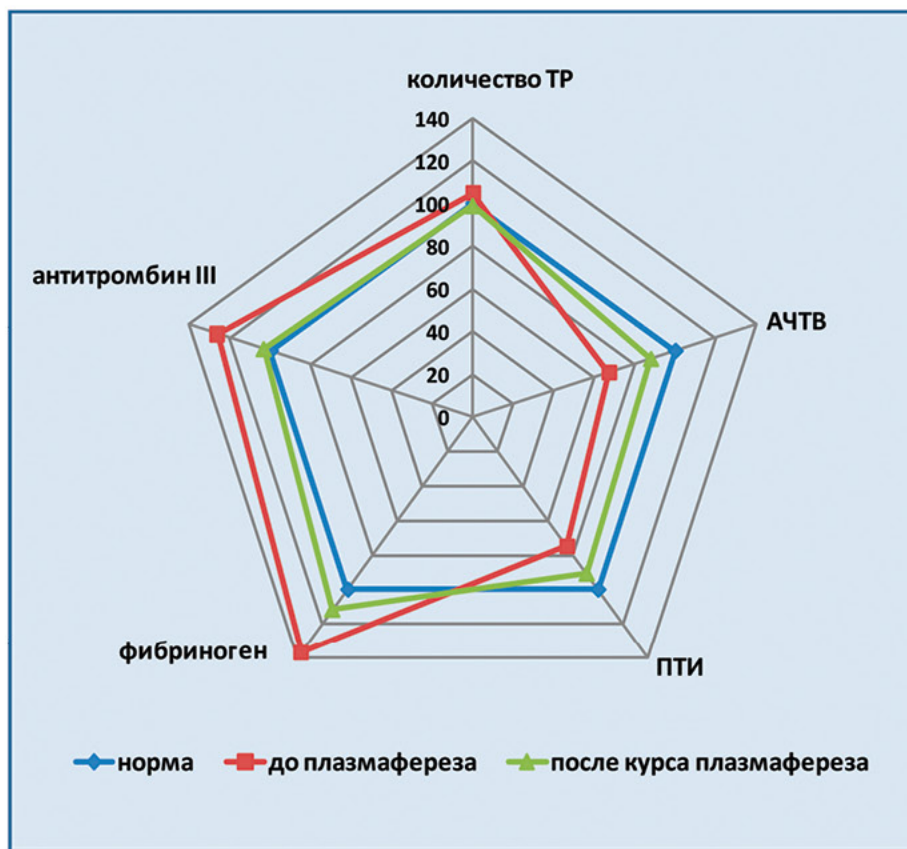


Рис. 2. Динамика показателей гемостаза у больных панкреонекрозом в ферментативной фазе до и после курса плазмафереза (% от показателей контрольной группы, принятой за 100%). Обозначения: ТР — количество тромбоцитов; АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время; ПТИ — протромбиновый индекс

Анализ морфологической структуры популяции тромбоцитов выявил, что благодаря включению эфферентной терапии в комплекс лечебных мероприя-

тий больных панкреонекрозом наблюдается нормализация активационного статуса тромбоцитарного звена гемостаза (рис. 3).

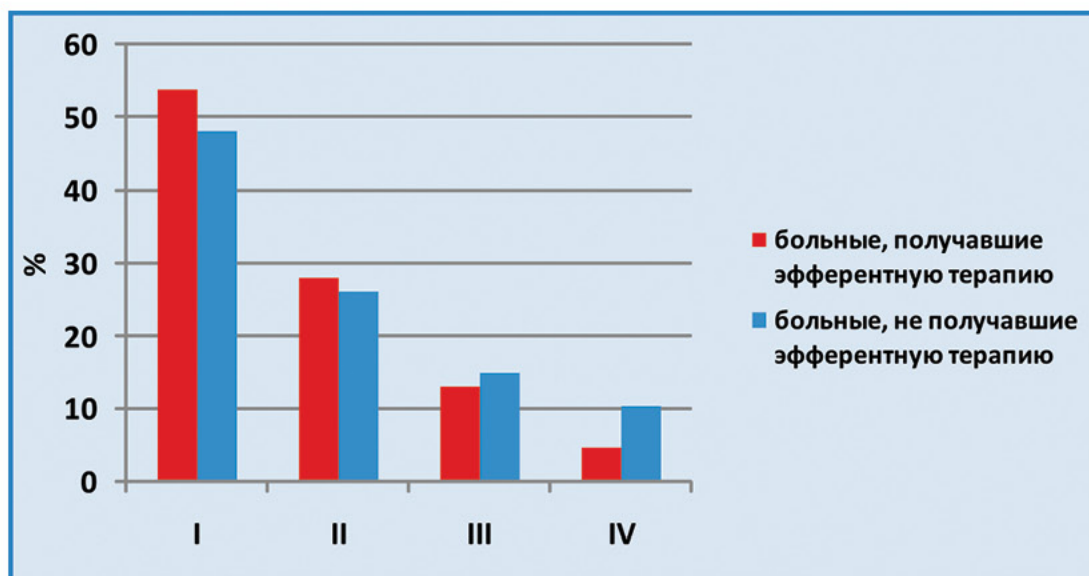


Рис. 3. Соотношение морфологических типов (I, II, III, IV) тромбоцитов периферической крови больных панкреонекрозом в ферментативной фазе

У пациентов, в комплексное лечение которых не включали сеансы плазмафереза, в циркуляции оставался не только высокий процент активированных клеток, но и большое количество дегенеративных тромбоцитов, исчерпавших свой функциональный резерв (10,5%). При этом морфометрические показатели циркулирующих клеток в группе больных с плаз-

маферезом уменьшились на 15-21% по отношению к исходным данным. У пациентов, не получавших плазмаферез, размерные показатели клеток оставались практически на первоначальных значениях.

Мы проанализировали влияние сеансов плазмафереза на развитие гнойных осложнений и показатели летальности больных панкреонекрозом (табл. 1).

Таблица 1

Влияние сеансов плазмафереза на развитие гнойных осложнений и показатели летальности у больных панкреонекрозом в ферментативной фазе

Больные	Число больных	Частота гнойных осложнений		Летальность	
		абс.	%	абс.	%
Получавшие плазмаферез	30	6	20	6	13,3
Не получавшие плазмаферез	20	11	55	9	45
Всего	50	15	30	15	30

Как видно из табл. 1, благодаря применению плазмафереза отмечалось снижение частоты гнойных осложнений по отношению к группе сравнения более чем в 2 раза (20% против 55). Аналогичные результаты получены и при анализе показателей летальности в анализируемых группах. Таким образом, плазмаферез является эффективным методом детоксикации при лечении больных панкреонекрозом в ферментативной фазе. Он позволяет снизить процент гнойно-воспалительных осложнений и летальность у данной категории больных. Кроме того, плазмаферез оказы-

вает нормализующее влияние на функцию тромбоцитарного звена гемостаза:

- уменьшаются размерные параметры клеток;
- снижается содержание активированных тромбоцитов, сокращается процент дегенеративно-измененных клеток;
- нормализуются показатели гемостазиограммы.

У больных панкреонекрозом в фазе секвестрации исследовали эффективность операций полупродленной гемофильтрации (ППГФ). Оценку морфофункционального состояния тромбоцитов периферической

крови проводили методом витальной компьютерной морфометрии.

Полученные данные продемонстрировали высокую чувствительность и информативность морфометрических показателей тромбоцитов в процессе проведения ППГФ (табл. 2). При этом наиболее информативной оказалась динамика средне-популяционного диаметра клеток. Однако внутригрупповые изменения этого клеточного показателя были далеко не однознач-

ны: у 5 пациентов (20%) наблюдалась нормализация среднепопуляционного диаметра клеток. Эти больные продемонстрировали положительную клиническую динамику. В 15 наблюдениях величина диаметра циркулирующих клеток или оставалась на прежних значениях, или продолжала прогрессивно увеличиваться. В этой подгруппе у 9 больных развились гнойные осложнения, летальность составила 35%.

Таблица 2

Морфометрические параметры тромбоцитов периферической крови больных с синдромом ПОН до и после проведения ППГФ

Группы	Диаметр, мкм	Периметр, мкм	Высота, мкм	Площадь, мкм ²	Объем, мкм ³
До ППГФ	3,7±1,2	10,4±5,8	0,8±0,4	6,9±3,1	2,6±1,2
После ППГФ	3,5±1,2	10,±5,6	1,0±0,3	7,4±5,5	2,8±1,8
5-е сутки после ППГФ	3,5 ±0,9	9,5±4,1	0,9±0,3	6,3±4,1	2,3±1,3

Примечание: значения всех параметров достоверны относительно контроля: $p < 0,05$.

Не исключено, что прогрессирующее увеличение морфометрических параметров связано с необратимыми патологическими изменениями морфологического субстрата клеток и нарушением их функциональной полноценности. Регистрация таких изменений показывает отсутствие эффективности проводимого лечения и является неблагоприятным прогностическим признаком.

Мы проанализировали влияние ППГФ на развитие

гнойных осложнений и показатели летальности больных панкреонекрозом (табл. 3). Так, на фоне проведения ППГФ было отмечено снижение частоты гнойных осложнений (45% против 80) и летальности (35% против 60). Таким образом, включение в комплекс лечебных мероприятий у больных панкреонекрозом в фазе секвестрации операций ППГФ с целью обеспечения высокоэффективной детоксикации организма больного является патогенетически обоснованным.

Таблица 3

Показатели прогрессирования гнойных осложнений и летальности у больных с панкреонекрозом в фазе секвестрации

Больные	Число больных	Частота гнойных осложнений		Летальность	
		абс.	%	абс.	%
Получавшие ППГФ	20	9	45	7	35
Не получавшие ППГФ	10	8	80	6	60
Всего	30	17	53,3	13	43,3

Резюмируя изложенное выше, можно заключить, что на современном этапе развития медицинской науки у врачей-хирургов и анестезиологов-реаниматологов имеется большой арсенал способов интенсивного лечения острого панкреатита и его осложнений. Реальное улучшение результатов лечения этой тяжелой патологии в настоящее время связано с дальнейшим совершенствованием методов ранней диагностики и использованием современных медицинских технологий, основанных на принципах опережающей этиопатогенетической терапии.

Проведенное исследование позволило предложить для практического использования количественные критерии оценки эффективности де-

токсикационных мероприятий и прогнозирования неблагоприятного исхода полиорганной недостаточности в режиме реального времени. Полученные результаты по компьютерной морфометрии тромбоцитов позволяют оперативно оценить эффективность проводимых процедур и могут быть использованы в качестве прогностических критериев исхода заболевания, т.е. вероятности развития осложнений и летальности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Адамашвили Г.Г., Дгебуадзе М.А., Швангирадзе Е.В., Коринтели И.А. Эффективность плазмафереза при лечении хирургического сепсиса с полиорганной

- недостаточностью // *Новости хир.* 2011. №1. С.68-71.
2. *Василенко И.А., Гаспарян С.А., Антонова И.Ш.* и др. Динамика показателей тромбоцитарного звена гемостаза при физиологическом течении беременности // *Вопр. гинекол., акуш. и перинатол.* 2006. №4. С.5-12.
 3. *Данилов И.А., Овечкин А.М.* Полиорганная недостаточность: состояние проблемы и современные методы лечения с использованием низкопоточных мембранных технологий // *Общая реаниматол.* 2011. №6. С.66-71.
 4. *Эдзитовецкий Д.Э., Винник Ю.С., Борисов Р.Н.* Динамика и коррекция полиорганной недостаточности у больных распространённым гнойным перитонитом при этапном хирургическом лечении // *Мед. и образ. в Сибири.* 2012. №2. С.45.
 5. *Родоман Г.В., Шалаева Т.И., Плоткин Д.В.* и др. Синдром системной воспалительной реакции и риск развития полиорганной недостаточности у пациентов с острым некротическим панкреатитом // *Вестн. РГМУ.* 2012. №3. С.5-10.
 6. *Талан А.В., Ушакова Н.Д., Маслов А.А., Тищенко И.С.* Применение продленной вено-венозной гемофильтрации у больных с полиорганной недостаточностью в онкологической практике // *Нефрол. и диализ.* 2009. №4. С.363.
 7. *Fourrier F.* Severe sepsis, coagulation, and fibrinolysis: dead end or one way? // *Crit. Care Med.* 2012. V.40, No.9. P.2704-2708.
 8. *Martin G.S.* Sepsis, severe sepsis and septic shock: changes in incidence, pathogens and outcomes // *Expert Rev. Anti-Infect. Ther.* 2012. V.10, No.6. P.701-706.