

О. Д. Боярчук, С. Б.Коваль, Н. В. Луніна

Зміни лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів при синдромі дисемільованого згортання крові

Развитие ДВС-синдрома в организме экспериментальных животных вызывало глубокие нарушения в системе гемостаза. При этом наблюдались нейтрофильный лейкоцитоз, за счет уменьшения числа гранулоцитов в костном мозгу, вследствие активации процесса пролиферации и выброса зрелых форм в кровь; дегрануляция нейтрофильных лейкоцитов периферической крови кроликов, что приводило к повышению активности кислой фосфатазы и было наиболее выражено в стадии гипокоагуляции.

Вступ

Дослідженнями нашої лабораторії було встановлено, що при впливі на організм різних факторів середовища, які призводять до формування стрес-синдрому, розвивається не лише нейтрофільний лейкоцитоз, але й зменшується число лізосом у гранулоцитах. Доведено більш виражений порівняно з лізосомальними ферментами печінки та головного мозку активуючий вплив лізосомальних ферментів нейтрофілів на фактор Хагемана [6, 7]. Встановлено залежність систем гемостазу від активності лізосомальних ферментів, а саме — нейтрофільних лейкоцитів [8]. У процесі досліджень було відзначено, що при дії надзвичайних подразників (крововтрата, зниження барометричного тиску, фізичне навантаження, іммобілізація) у тварин спостерігалися прояви, характерні для синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові [5, 8, 9].

Оскільки ДВЗ-синдром розглядається як розлагодженість підсистем регуляції агрегатного стану крові, нами було висунуто припущення, що істотне значення в розвитку синдрому ДВЗ може бути пов'язане зі зміною лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів, що і є метою цього дослідження.

Методика

Експерименти проведені на 30 кроликах обох статей масою 2,5—3 кг. ДВЗ-синдром моделювали за допомогою препарату «Ефа-2», який вводили натщесерце, перорально в дозі 8330 мг/кг.

Для оцінки системи гемостазу були обрані загальноприйняті методики [3, 4]. Стан гранулоцитарної системи вивчали за кількістю лейкоцитів, лейкоцитарною формулою, розраховували абсолютну кількість нейтрофільних лейкоцитів у периферичній крові [3], гранулоцитопоез — за кількістю мієлокаріоцитів і парціальною гранулоцитограмою, диференціюючи проліферуючий і зріючий пули клітин [3]. Лізосомальну формулу нейтрофілів диферен-

ціювали за методом Пігаревського [11], активність кислій фосфатази визначали за методом Боданського [12].

Всі показники досліджували до відтворення ДВЗ-синдрому і до відновлення показників гемостазу до вихідного рівня.

Результати обробляли статистично на комп'ютері методом прямих різниць за Монцевічюте-Ерінгене [10].

Результати та їх обговорення

Після введення препарату спостерігався розвиток стадії гіперкоагуляції, яка тривала в середньому 4 доби, потім протягом 3–4 діб паралельно з ознаками гіперкоагуляції відзначалися гіпокоагулемічні зрушення. Вони поступово превалювали і в результаті розвивалася гіпокоагуляційна стадія, яка тривала в середньому 6 діб (табл. 1).

Час рекальцифікації плазми був скороченим протягом усієї стадії гіперкоагуляції. Найбільш виражені зміни спостерігались на 2-гу добу. До 4-ї доби відзначалася тенденція до поступового збільшення часу рекальцифікації плазми. В стадії гіпокоагуляції триває збільшення часу згортання плазми, з максимальним значенням на 3-тю добу. У період наступних трьох днів розвитку цієї стадії час рекальцифікації плазми починав відновлюватися.

Кількість фібриногену у фазі гіперкоагуляції незначно підвищувалася. Максимальне підвищення фібриногену в плазмі спостерігалось на 2-гу добу. В наступні доби його кількість знижувалася, але показники залишалися вищими від вихідних значень. При гіпокоагуляції кількість фібриногену різко знижується, аж до повної відсутності в плазмі. Наймінімальні значення визначалися на 3-тю добу, потім показник поступово відновлювався.

У першу добу розвитку гіперкоагуляції відбувалось різке скорочення тромбінового часу. До 3-ї доби показник поступово підвищувався, але порівняно з вихідним значенням залишався скороченим. У фазу гіпокоагуляції тромбіновий час підвищувався до 4-ї доби включно, з максимальним значенням на 3-тю добу. В наступні доби тромбіновий час практично відновлювався.

У стадію гіперкоагуляції спостерігалось підвищення активності фактора XIII порівняно з вихідними значеннями. Максимальна активність фібринстабілізуючого фактора відзначалось на 2-гу добу. На 3- і 4-ту добу активність фібринази поступово знижувалось, але залишалася вищою від вихідних значень до 6-ї доби (до закінчення стадії гіперкоагуляції). На стадії гіпокоагулемічних зрушень відбувалось різке зниження активності фібринстабілізуючого фактора протягом перших 4 діб. Максимальне зменшення активності фібринази фіксували на 3-тю добу, після чого спостерігалася тенденція до поступового відновлення показника до норми (в середньому на 19-ту добу). При гіперкоагуляції відзначалися позитивні проби етанолового тесту. У фазі гіпокоагуляції всі проби були негативними.

Результати проведених досліджень показали, що після введення препарату абсолютне число нейтрофілів підвищувалось протягом стадії гіперкоагуляції і в перші 3-ти доби гіпокоагуляції (табл. 2). Після цього число нейтрофілів починало відновлюватися. Максимальний нейтрофільоз відзначався на 3-тю добу стадії гіпокоагуляції.

Таблиця 1. Показники системи гемостазу

Показник	Вихідний стан	Час після введення						
		Гіперкоагуляція				Коагуляція		
		1 доба	2 доби	3 доби	4 доби	5 діб	6 діб	7 діб
Час рекальцифікації плазми, С	78,7±2,64	-38,5±3,93	-40,9±4,20	-37,8±8,87*	-22,5±9,40**	-2,0±5,18	+5,0±4,76	+13,6±5,93
Тромбіновий час, С	16,5±1,11	-5,6±0,58*	-4,9±0,87*	-3,0±0,75*	-3,5±0,62*	+0,4±0,43	+1,2±0,67	+1,5±0,50**
Фібриноген, мг%	58,2±2,21	+28,0±13,26***	+31,7±8,54**	+24,0±7,37**	+11,2±0,94*	-22,9±5,52*	-26,8±5,81*	-33,5±5,43*
Активність фактора XIII, %	100±1,75	+71,0±1,25*	+72,0±3,85*	+56,0±4,76*	+47,5±5,64*	+5,4±2,61	-4,7±4,34	-12,3±2,54*
Етаноловий тест	0	1	1	1	1	0	0	0

*P < 0,001, **P < 0,02, ***P < 0,005 (тут і в табл. 2)

Таблиця 2. Показники гранулоцитарної системи

Показник	Вихідний стан	Час після введення						
		Гіперкоагуляція				Коагуляція		
		1 доба	2 доби	3 доби	4 доби	5 діб	6 діб	7 діб
Абсолютне число нейтрофілів, $\times 10^9$ /л	7,3±0,43	+1,9±0,39*	+1,7±0,27*	+2,0±0,42*	+2,3±1,04***	+1,0±0,44	+0,5±0,46	+1,2±0,36**
Абсолютне число дегранульованих нейтрофілів, $\times 10^9$ /л	0	+2,0±0,19*	+2,6±0,19*	+3,±0,36*	+3,5±0,74*	+2,7±0,23*	+3,0±0,18*	+3,1±0,24*
Кисла фосфатаза, БО	0	+0,22±0,05*	+0,36±0,07*	+0,48±0,12*	+0,51±0,011*	+0,38±0,09*	+0,42±0,11*	+0,50±0,12*
Абсолютне число клітин гранулоцитарного ряду, $\times 10^6$	43,4±0,68	+76,8±1,64*	+71,1±2,41*	+57,4±1,83*	+51,6±2,72*	+50,4±2,83*	+47,7±2,66*	+40,5±2,59*
Абсолютне число клітин проліферуючого пула, $\times 10^6$	9,5±0,41	+8,4±0,51*	+9,5±0,33*	+10,9±0,48*	+10,1±0,73*	+9,7±0,88	+9,1±0,61	+7,4±0,46*
Абсолютне число клітин визріваючого пула, $\times 10^6$	33,9±0,39	+65,4±0,52*	+64,6±0,55*	+46,5±0,38*	+41,5±1,24*	+40,7±1,95*	+38,6±2,05	+33,1±2,13*

після введення препарату «Ефа-2» (M±m)

препарату «Ефа-2»

споживання	Гіпокоагуляція							
	8 діб	9 діб	10 діб	11 діб	12 діб	13 діб	14 діб	19 діб
	+27,3±3,97***	+148,3±22,67*	+163,6±22,94*	207,6±16,91*	+110,0±13,50*	+56,8±12,70*	+47,3±15,63**	+6,3±5,71
	+2,8±0,36*	+7,3±1,79*	+11,6±1,48*	+15,6±2,42*	+12,5±2,71*	+6,2±0,13*	+3,4±1,21**	+0,2±1,20
	-39,1±5,43*	-44,8±7,49*	-46,8±9,57*	-52,6±6,25*	-40,6±6,79*	-35,8±11,25**	-34,1±11,90**	-2,2±3,25
	-20,6±2,13*	-65,9±4,40*	-69,1±4,78*	-76,7±3,52*	-63,4±5,23*	-49,3±3,46*	-40,7±11,36**	-5,7±4,28
	0	0	0	0	0	0	0	0

після введення препарату «Ефа-2» (M±m)

препарату «Ефа-2»

споживання	Гіпокоагуляція							
	8 діб	9 діб	10 діб	11 діб	12 діб	13 діб	14 діб	19 діб
	+2,3±0,43*	+2,4±0,39*	+3,7±0,71*	+3,9±1,02*	+3,7±2,40	+1,4±0,18*	+0,7±0,28**	+0,3±0,37
	+3,6±0,39*	+4,6±0,31*	+5,8±0,51*	+5,1±0,58*	+6,3±2,34**	+5,6±0,14*	+4,6±1,66	+0,7±0,36
	+0,54±0,12*	+0,58±0,14*	+0,62±0,15*	+0,84±0,18*	+0,54±0,19**	+0,44±0,11*	+0,31±0,10**	+0,07±0,06
	+38,5±2,16*	+37,1±1,63*	+23,2±2,43*	+6,7±0,80*	+9,8±3,16**	+4,2±0,97*	+0,7±0,21**	+0,4±0,25
	+6,9±0,18*	+6,3±0,13*	+3,7±0,86*	+0,7±0,08*	-1,6±0,52**	-1,1±0,32*	+0,4±0,15**	+0,2±0,11
	+31,6±1,98*	+30,8±1,63*	19,5±1,15*	+6,1±1,30*	+11,4±3,62**	+5,3±1,31*	+1,1±0,25**	+0,1±0,14

У першу добу фази гіперкоагуляції в кістковому мозку відбувалося різке підвищення абсолютного числа клітин гранулоцитарного ряду, що значно перевищувало вихідні значення. В наступні доби всієї стадії гіперкоагуляції та гіпокоагуляції спостерігалось зменшення числа гранулоцитів у кістковому мозку з поступовим відновленням до кінця розвитку фази гіпокоагуляції. Мінімальні значення числа гранулоцитів відзначались у стадії гіпокоагуляції на 3-тю добу. В цій стадії протягом перших 3 діб збільшилося число клітин проліферуючого пулу гранулоцитарного ряду. Потім значення показника починали поступово знижуватися і до 3-ї доби розвитку гіпокоагуляції практично відновлювались, а на 4- і 5-ту добу число клітин проліферуючого пула було нижчим від вихідних значень.

Абсолютне число клітин визріваючого пула гранулоцитарного ряду зменшувалося протягом усієї стадії гіперкоагуляції та гіпокоагуляції, поступово відновлюючись до кінця розвитку гіпокоагуляційної фази. Мінімальне число клітин визріваючого пула в кістковому мозку фіксувалося на 3- і 5-ту добу гіпокоагуляції.

Число дегранульованих нейтрофілів збільшилося протягом гіперкоагуляційної фази і в стадії гіпокоагуляції сягло максимальних значень з піком на 2- і 4-ту добу, після чого намітилася тенденція до відновлення.

Активність кислої фосфатази підвищувалося протягом гіперкоагуляції. В стадії гіпокоагуляції тривало підвищення активності фермента — по 3-тю добу включно, потім відзначалося зменшення вмісту кислої фосфатази в сироватці крові.

Порушення гемостазу підтверджують виникнення ДВЗ-синдрому в організмі дослідних тварин. Аналіз одержаних результатів дозволяє зробити висновок, що розвиток синдрому дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові зумовлений ступенем активності кислої фосфатази в плазмі крові. Так, у період вираженої функціональної активності кислої фосфатази розвиваються найбільш тяжкі ушкодження гемостазу, що розвиваються в стадії гіпокоагуляції і призводять до часткової загибелі тварин (27%). У свою чергу, активність кислої фосфатази визначалася ступенем розвитку нейтрофілозу і дегрануляцією нейтрофільних лейкоцитів.

Таким чином, відповідно до поставленої мети був виявлений зв'язок у розвитку ДВЗ-синдрому з функціональною активністю лізосомального апарату нейтрофільних лейкоцитів.

H. D. Boyarchuk, S. B. Koval, N. V. Lunina

CHANGES IN LYSOSOMAL APPARATUS OF NEUTROPHILS UNDER CONDITIONS OF DIC

The dependencet of DIC development on lesosomal apparatus neutrophils activity was founded. The most severe changes in hemostasis system were registered in the period of maximum acid phosphatus activity.

T.G. Shevchenko Lugansk State Institute

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. — М.: Медицина, 1988. — 528 с.
2. Грицюк А.И., Амосова Е.Н., Грицюк И.А. Практическая гемостазиология. — К.: Здоров'я, 1994. — 256 с.
3. Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. В.В.Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 364 с.
4. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / Под ред. Балуды В.П. и др. — Томск: Б.и., 1980. — 314 с.
5. Лунина Н.В., Агафонова Н.А. Влияние многократного стрессорного воздействия на лизосомальный аппарат нейтрофильных лейкоцитов // Физиол. журнал СССР. — 1986. — **72**, № 7. — С.952-958.
6. Лунина Н.В., Коваль С.Б. Реакция лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов на действие стрессора неинфекционной природы // Физиол. журн. — 1982. — **28**, №6. — С. 736-741.
7. Лунина Н.В., Коваль С.Б. Роль нейтрофильного лейкоцитозу при адапційному синдромі. — К.: Наук. думка, 1982. — С.261-262.
8. Лунина Н.В., Козюк П.М. Влияние острой кровопотери на лизосомальный аппарат нейтрофильных лейкоцитов // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1978. — Вып. 2. — С. 76-78.
9. Лунина Н.В., Полтавский А.Ф. Зависимость свертывающей и фибринолитической систем крови от функционального состояния лизосомального аппарата нейтрофильных лейкоцитов при действии на организм пониженного барометрического давления // Космич. биология и авиакосмич. медицина. — 1984. — **18**, № 3. — С.90-92.
10. Монцевичюте-Эрингене Е.В. Упрощенные математико-статические методы в медицинской исследовательской работе // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1964. — № 4. — С. 72-78.
11. Пигаревский В.Е. Лизосомально-катионный тест // Там же. — 1975. — Вып.3. — С.86-88.
12. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике. — М.: Медицина, 1969. — 652 с.

Луган. пед. ін-т ім. Т.Г. Шевченка

Матеріал надійшов
до редакції 1.12.98