

ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНАЯ АДГЕЗИЯ У БОЛЬНЫХ РОЖЕЙ

Емельянова А.Н., Витковский Ю.А.

ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», г. Чита, Россия

Резюме. Под наблюдением находилось 20 больных (12 женщин и 8 мужчин) с эритематозно-буллезной формой средней степени тяжести и 20 больных (10 мужчин и 10 женщин) с эритематозной формой средней степени тяжести рожи в возрасте 45–55 лет. У всех больных диагностировано первичное заболевание с локализацией воспалительного процесса на нижних конечностях. Больные госпитализированы в течение 1–3-х суток с начала клинических проявлений болезни. Лабораторные исследования у всех пациентов проведены на 3 и 12 сутки с момента проявления симптомов рожи. Контрольная группа представлена 55 здоровыми лицами обоего пола в возрасте 45–55 лет. Всем больным проводилась стандартная терапия, включающая антибиотики, десенсибилизирующие и дезинтоксикационные препараты.

У больных с разными формами рожи проводилось определение показателя лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА). Установлено, что показатель ЛТА резко снижался уже в начале заболевания, несмотря на то, что существенных изменений в содержании абсолютного числа лимфоцитов по сравнению со здоровыми в эти сроки не выявлено. Одновременно уменьшалась степень адгезии. На 12 сутки лечения показатель ЛТА поднялся у больных, существенных изменений в содержании абсолютного числа лимфоцитов по сравнению со здоровыми в эти сроки не выявлено. Степень адгезии также увеличивалась. При роже снижается способность лимфоцитов адгезировать на своей поверхности тромбоциты. Динамика параметров ЛТА — показатель оценки эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: рожа, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия, иммунитет, гемостаз

Адрес для переписки:

Витковский Юрий Антонович
д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии
ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия»
672000, Россия, г. Чита, ул. Горького, 39а.
Тел.: 8 (3022) 32-30-58.
Факс: 8 (3022) 32-30-58.
E-mail: alvina1963@jandex.ru

Авторы:

Емельянова А.Н. — к.м.н., доцент кафедры инфекционных болезней с курсами общей и военной эпидемиологии ЧГМА, г. Чита

Витковский Ю.А. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ЧГМА, г. Чита

Поступила 05.05.2012

Отправлена на доработку 13.05.2012

Принята к печати 27.11.2012

LYMPHOCYTE-TO PLATELET ADHERENCE IN PATIENTS WITH ERYSIPELAS

Emelyanova A.N., Vitkovskiy Yu.A.

Chita State Medical Academy, Chita, Russian Federation

Abstract. We observed twenty patients (12 women and 8 men) with erythematous-bullous erysipelas of moderate grade, and twenty patients (10 men and 10 women) with erythematous form of the disease, 45 to 55 years old. All the patients were diagnosed with primary inflammatory disease located at the lower extremities. The patients were admitted to the hospital within 1 or 3 days from the onset of clinical signs of the disease. In all patients, laboratory studies were performed at 3 and 12 days after clinical onset of the disease. Control group consisted of 55 age- and sex-matched healthy persons. All the patients received standard therapy, including antibiotics, desensitization and detoxifying drugs. Indices of lymphocyte-to-platelet adhesion (LPA) were determined in patients with different forms of erysipelas. It has been found that LPA parameters were sharply decreased since the beginning of the disease, in spite of near-normal absolute lymphocyte counts, as compared with healthy controls at these terms. A simultaneous reduction in adherence was registered. At day 12, the LPA parameters were increased in the patients, with absence of significant changes in absolute lymphocyte contents against control values, the adhesion rates proved to be increased as well. Hence, a reduced ability of blood lymphocytes to adhere to the surface of platelets was revealed in erysipelas. Dynamics of LPA parameters may serve as an indicator of treatment efficiency. (*Med. Immunol.*, 2013, vol. 15, N 2, pp 163-168)

Keywords: erysipelas, lymphocyte-to-platelet adherence, immunity, haemostasis

Address for correspondence:

Vitkovskiy Yuriy A.
Professor, PhD, MD, Chief, Department of Normal
Physiology, Chita State Medical Academy
672000, Russian Federation, Chita, Gor'kogo str., 39a.
Phone: 7 (3022) 32-30-58.
Fax: 7 (3022) 32-30-58.
E-mail: alvina1963@jandex.ru

Authors:

Emelyanova A.N., PhD (Medicine), Assistant
Professor, Department of Infectious Diseases, Chita
State Medical Academy, Chita
Vitkovskiy Yu.A., Professor, PhD (Medicine), MD,
Chief, Department of Normal Physiology, Chita State
Medical Academy, Chita

Received 05.05.2012
Revision received 13.05.2012
Accepted 27.11.2012

Введение

Ранее установлено, что у больных рожей развиваются признаки вторичного иммунодефицита и гиперкоагуляционного синдрома [1, 8, 9]. Вместе с этим известно, что иммунитет и гемостаз составляют единую клеточно-гуморальную систему защиты [10, 11]. При этом тромбоциты вовлекаются не только в реакции системы гемостаза, но и в иммунологическую защиту, взаимодействуя с лимфоцитами [2-7, 14]. Кровяные пластинки способствуют миграции лимфоцитов и их фиксации на поврежденной поверхности сосудистой стенки, принимая участие в развитии воспаления, тромбоза, иммунных реакций, репаративных процессов [6, 7, 12, 13, 15]. Ранее нами было показано, что лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия (ЛТА) может служить показателем иммунологической реактивности при патологических процессах [7]. Однако при роже до сих пор не установлена способность лимфоцитов вступать в контакт с тромбоцитами, в связи с чем исследование этого феномена является необходимым для расширения представлений о патогенезе заболевания.

Целью настоящего исследования явилось изучение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных различными формами рожи в динамике лечения.

Материалы и методы

В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 – поправки) и Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Под наблюдением находилось 20 больных (12 женщин и 8 мужчин) с эритематозно-буллезной формой средней степени и 20 больных (10 мужчин и 10 женщин) с эритематозной формой средней степени рожи в возрасте 45-55 лет. У всех больных диагностировано первичное заболевание с локализацией воспалительного процесса на нижних конечностях. Больные госпитализированы в течение 1-3-х суток с начала клинических проявлений болезни.

Лабораторные исследования у всех пациентов проведены на 3 и 12 сутки с момента проявления симптомов рожи.

У всех больных проводилась стандартная терапия, включающая антибиотики, десенсибилизирующие и дезинтоксикационные препараты.

Контрольная группа представлена 55 здоровыми лицами обоего пола в возрасте 45-55 лет.

Определение показателя лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии осуществляли по методу Ю.А. Витковского и соавт. (1999). Свежую гепаринизированную кровь обследуемых больных насливали на градиент урографин-фикол (плотность 1,077) и выделяли лимфоциты, как описано выше. Собирали интерфазное кольцо, содержащие клетки и кровяные пластинки, однократно промывали фосфатно-солевым буфером (рН 7,4) и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 3-4 мин. Надосадочную жидкость сливали, осадок микроскопировали в камере Горяева. Подсчитывали число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагратов на 100 клеток. Степень адгезии определяли как число кровяных пластинок, адгезированных на поверхности одного лимфоцита.

Полученные данные обработаны методом вариационной статистики с использованием критерия t Стьюдента и вычислен показатель достоверности различий. Обработка параметров выполнена программой «Microsoft Excel».

Результаты и обсуждение

Мы не выявили у пациентов с рожей существенных изменений в содержании абсолютного числа лимфоцитов в начале заболевания по сравнению со здоровыми (табл. 1). Однако показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии уже в эти сроки резко снижался. Так, у больных с эритематозно-буллезной формой он уменьшался до $2,0 \pm 0,3\%$, эритематозной – $3,0 \pm 0,3\%$, тогда как у здоровых он составлял $14,0 \pm 1,0\%$ ($P_1 < 0,001$). Соответственно этому изменялось абсолютное число лимфоцитов, присоединивших к себе кровяные пластинки у больных – $0,10 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ и $0,16 \pm 0,03 \times 10^9/\text{л}$, а у здоровых – $0,69 \pm 0,02 \times 10^9/\text{л}$ ($P_1 < 0,001$).

Одновременно с этим уменьшалось среднее число тромбоцитов, адгезированных на поверхности лимфоцита (степень адгезии) с $3,2 \pm 0,1$ в контроле до $1,2 \pm 0,05$ при эритематозно-буллезной форме и до $1,3 \pm 0,06$ при эритематозной формах заболевания ($P_1 < 0,001$).

На 12-е сутки после проведенного лечения мы также не заметили разницы содержания абсолютного числа лимфоцитов по сравнению с началом заболевания и со здоровыми лицами ($P_{1,2} > 0,05$). В то же время обнаружено, что показатель ЛТА существенно поднялся у больных с эритематозной формой рожи до $8,0 \pm 1,0\%$ или $0,33 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$, в меньшей степени у пациентов с эритематозно-буллезной формой болезни – до $5,0 \pm 0,4\%$ или $0,19 \pm 0,04 \times 10^9/\text{л}$ ($P_2 < 0,001$). При этом степень адгезии также увеличивалась – до $1,8 \pm 0,07$ и $2,2 \pm 0,09$ соответственно ($P_2 < 0,001$).

Какова же природа лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и ее биологическое значение при роже? Как установлено Ю.А. Витковским и соавт.

ТАБЛИЦА 1. ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНАЯ АДГЕЗИЯ У БОЛЬНЫХ РОЖИСТЫМ ВОСПАЛЕНИЕМ (M±m)

Наблюда- емые группы	До лечения				После лечения			
	Лимфо- циты, абс. × 10 ⁹ /л	ЛТА		Степень адгезии	Лимфо- циты, абс. × 10 ⁹ /л	ЛТА		Степень адгезии
		отн., %	абс. × 10 ⁹ /л			отн., %	абс. × 10 ⁹ /л	
Здоровые (n = 55)	2,04±0,4	14,0±1,0	0,69±0,02	3,2±0,1	–	–	–	–
Больные рожей, эрите- матозно- буллезная форма (n = 20)	1,95±0,4 P ₁ > 0,05	2,0±0,3 P ₁ < 0,001	0,10±0,02 P ₁ < 0,001	1,2±0,05 P ₁ < 0,001	2,57±0,3 P ₁ > 0,05 P ₂ > 0,05	5,0±0,4 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	0,19±0,04 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	1,8±0,07 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001
Больные рожей, эритема- тозная форма (n = 20)	1,89±0,4 P ₁ > 0,05	3,0±0,3 P ₁ < 0,001	0,16±0,03 P ₁ < 0,001	1,3±0,06 P ₁ < 0,001	2,44±0,4 P ₁ > 0,05 P ₂ > 0,05	8,0±1,0 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	0,33±0,06 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	2,2±0,09 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001

Примечание. P₁ – достоверность различий по сравнению со здоровыми, P₂ – достоверность различий по сравнению с больными.

(1999), Т-хелперы (CD4⁺) способны к спонтанному розеткообразованию с интактными тромбоцитами, а интерлейкин-2 и IL-1β повышают эту способность у хелперно-индуцирующих клеток с интактными тромбоцитами и индуцируют ее у натуральных киллеров (CD16⁺).

При развитии рожи у пациентов нарушается микроциркуляция в воспалительном очаге, влекущая за собой вторичное повреждение тканей. Усиление лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии играет при этом положительную роль, поскольку при повреждении тканей и нарушении целостности сосудистого русла разрушается сосудистый эндотелий и тем самым затрудняется экспрессия большинства известных молекул адгезии. В результате этого нарушаются кооперация и миграция клеток в указанной зоне. Способность лимфоцитов адгезировать к своей поверхности тромбоциты, которые в свою очередь связаны с субэндотелием, обеспечивает контакт клетки и субэндотелиального матрикса. Кровяные пластинки усиливают свой контакт с лимфоцитами, главным образом Т-хелперами, и стимулируют их посредством высвобождающихся из кровяных пластинок молекул IL-1. Под влиянием последнего индуцируется секреция IL-2, усиливающего хелперные функции Т-клеток (CD4⁺) и стимулирующего натуральные киллеры (CD16⁺). При этом IL-2 является специфическим индуктором экспрессии ICAM-1, рецептор которого располагается на мембране лимфоцита и непосредственно связан с ICAM-1[2-6]. Активированные лимфоциты усиленно адгезируют тромбоциты и, благодаря ретракции последних, продвигаются далее через поврежденную стенку сосудов вглубь

травмированного участка. При этом кровяные пластинки осуществляют трофическую и репаративную функции, секретируя в окружающую среду ряд ростковых факторов. К таким соединениям относятся фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), основной фактор роста фибробластов (bFGF), ангиопоэтин-1, эпидермальный фактор роста (EGF), инсулиноподобный фактор роста-1 (IGF-1), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), модулятор иммунного ответа – трансформирующий фактор роста бета (TGF-β).

Однако представленный сценарий событий невозможно представить без гемостатических реакций, которые развиваются быстрее, чем иммунные, и тем самым являются иницирующими в очаге повреждения. В первую очередь на обнаженные коллагеновые волокна прилипают тромбоциты с участием адгезивных молекул, общих с лейкоцитами, обеспечивая первичный гемостаз и разворачивая проферментно-ферментный каскад свертывания крови. При этом высвобождаются соединения, усиливающие гемостаз и активирующие фибринолиз (тромбоспондин, плазминоген, высокомолекулярный кининоген и др.).

Заключение

Таким образом, при роже снижается способность лимфоцитов адгезировать на своей поверхности тромбоциты. Более тяжелое течение заболевания (эритематозно-буллезная форма) сопровождается большими сдвигами параметров ЛТА, а их динамика позволяет оценить эффективность проводимого лечения.

Список литературы

1. Валишин Д.А., Абдулов Р.Х., Мухаметов Р.Я., Абдулова Г.Р. Некоторые патогенетические аспекты рожи // Инфекционные болезни. — 2007. — Т. 5, № 2. — С. 29-31.
2. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Модуляция лимфоцитарно-тромбоцитарного взаимодействия интерлейкином-2 // Цитомедины, цитокины и антигены главного комплекса гистосовместимости (HLA): Сборник научных трудов. Выпуск 2. — Чита, 1999. — С. 32-34.
3. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования // Иммунология. — 1999. — № 4. — С. 35-37.
4. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии // XVIII съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова. Тезисы докладов. — Казань. — 25-28 сентября 2001. — С. 319.
5. Витковский Ю.А., Солпов А.В., Кузник Б.И. Влияние цитокинов на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию // Медицинская иммунология. — 2002. — Т. 4, № 2. — С. 135-136.
6. Витковский Ю.А., Солпов А.В., Кузник Б.И. Механизмы лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии // Научные труды I съезда физиологов СНГ. — Сочи, Дагомыс 19-23 сентября 2005. — Т. 1. — С. 299.
7. Витковский Ю.А., Солпов А.В., Кузник Б.И. Тромбоциты усиливают адгезию лимфоцитов к экстрацеллюлярному матриксу // XX съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова. Тезисы докладов. — М., 4-8 июня 2007. — С. 178.
8. Гейниц А.В., Дербенёв В.А. Комплексное исследование рожи с использованием физических и физико-химических методов. — М.: Научный мир, 2005.
9. Емельянова А.Н. Влияние биорегулирующей терапии на состояние иммунитета и гемостаза при рожистом воспалении: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2000.
10. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая гуморальная система защиты организма // Забайкальский медицинский вестник. — 2004. — № 4. — С. 13-19.
11. Кузник Б.И., Цыбиков Н.Н., Витковский Ю.А. Единая клеточно-гуморальная система защиты организма // Тромбоз, гемостаз и реология. — 2005. — Т. 22, № 2. — С. 3-14.
12. Кузник Б.И., Витковский Ю.А., Солпов А.В. Адгезивные молекулы и лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимодействия // Вестник гематологии. — 2006. — Т. 2, № 2. — С. 42-55.
13. Солпов А.В. Влияние про- и противовоспалительных цитокинов на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию // Забайкальский медицинский вестник. — 2002. — № 1. — С. 14-17.
14. Солпов А.В. Влияние цитокинов на лимфоцитарно-тромбоцитарную адгезию // Тромбоз, гемостаз, реология. — 2002. — № 1. — С. 34-36.
15. Savion N., Shenkman B., Brill G., Solpov A., Vitkovsky Y., Kuznik B.I., Koltakov A., Kotev-Emeth S., Bank I. Platelets Promote CD4+ Lymphocyte Adhesion to Extracellular Matrix and Fibronectin Under Flow: Role of Integrins, CD40 Ligand and P-Selectin Glycoprotein Ligand-1. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2005, vol. 3, suppl. 1, P0929.

References

1. Valishin D.A., Abdulov R.H., Mukhametov R.Ya., Abdulova G.R. Nekotorye patogeneticheskie aspekty rozhi [Some pathogenetic aspects of erysipelas]. *Infektsionnye bolezni — Infectious Diseases*, 2007, vol. 5, no. 2, pp. 29-31.
2. Vitkovskiy Yu.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. Modulyatsiya limfotsitarno-trombotsitarnogo vzaimodeystviya interleykinom-2 [Lymphocyte-plateletes interactions modulation by inteleukin-2]. *Sbornik nauchnykh trudov "Tsitomediny, tsitokiny i antigeny glavnogo kompleksa gistosovmestimosti (HLA)"* [Cytomedins, cytokines and major histocompatibility complex antigens (HLA), Research volume]. *Chita*, 1999, vol. 2, pp. 32-34.
3. Vitkovskiy Yu.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. Fenomen limfotsitarno-trombotsitarnogo rozetkoobrazovaniya [Phenomenon of lymphocyte-thrombocyte rosette formation]. *Immunologiya — Immunology*, 1999, no. 4, pp. 35-37.
4. Vitkovskiy Yu.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. Fenomen limfotsitarno-trombotsitarnoy adgezii [Lymphocyte-platelet adhesion phenomena]. *XVIII s"ezd Fiziologicheskogo obshchestva im. I.P. Pavlova, Tezisy dokladov* [XVII Congress Phisiology society after Pavlov I.P., Thesis Sept. 25-28]. *Kazan*, 2001, p. 319.
5. Vitkovskiy Yu.A., Solpov A.V., Kuznik B.I. Vliyanie tsitokinov na limfotsitarno-trombotsitarnuyu adgeziyu [Cytokines influence on lymphocyte-plateletes adhesion]. *Meditinskaya immunologiya — Medical Immunology*, 2002, vol. 4, no. 2, pp. 135-136.

6. Vitkovskiy Yu.A., Solpov A.V., Kuznik B.I. Mekhanizmy limfotsitarno-trombotsitarnoy adgezii [Mechanisms of lymphocyte-plateletes adhesion]. *Nauchnye trudy I s"ezd fiziologov SNG* [Scientific papers I Congress of Physiologists CIS, Dagomys, Sept. 19-23]. *Sochi, 2005, vol. 1, p. 299.*
7. Vitkovskiy Yu.A., Solpov A.V., Kuznik B.I. Trombotsity usilivayut adgeziyu limfotsitov k ekstratsellyulyarnomu matriksu [Plateletes enforced lymphocytes adhesion to extracellular matrix]. *XX s"ezd Fiziologicheskogo obshchestva im. I.P. Pavlova, Tezisy dokladov* [XX Congress Phisiology society after Pavlov I.P., Thesis, June 4-8]. *Moscow, 2007, p. 178.*
8. Geynits A.V., Derbeniov V.A. Kompleksnoe issledovanie rozhi s ispol'zovaniem fizicheskikh i fizikokhimicheskikh metodov [Complex study of erysipelas using physical and physicochemical methods]. *Moscow, Nauchnyy mir, 2005.*
9. Emel'yanova A.N. Vliyanie bioreguliruyushchey terapii na sostoyanie immuniteta i gemostaza pri rozhistom vospalenii. Avtoref. diss. kand. med. nauk [Effect of biocontrol treatment on state immunity and hemostasis with erysipelas. Autoref. Cand. med. sci. diss.]. *Moscow, 2000.*
10. Kuznik B.I., Tsibikov N.N., Vitkovskiy Yu.A. Edinaya gumoral'naya sistema zashchity organizma [General humoral protective system of organism]. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik – Transbaikalian Medical Bulletin, 2004, no. 4, pp. 13-19.*
11. Kuznik B.I., Tsibikov N.N., Vitkovskiy Yu.A. Edinaya kletочно-gumoral'naya sistema zashchity organizma [General cellular-humoral protective system of organism]. *Tromboz, gemostaz i reologiya – Thrombosis, Hemostasis and Rheology, 2005, vol. 22, no. 2, pp. 3-14.*
12. Kuznik B.I., Vitkovskiy Yu.A., Solpov A.V. Adgezivnye molekuly i leykotsitarno-trombotsitarnye vzaimodeystviya [Adhesive moleculars and leukocyte-plateletes interactions]. *Vestnik gematologii – Bulletin of Hematology, 2006, vol. 2, no. 2, pp. 42-55.*
13. Solpov A.V. Vliyanie pro- i protivovospalitel'nykh tsitokinov na limfotsitarno-trombotsitarnuyu adgeziyu [Pro- and antiinflammatory cytokines influence on lymphocyte-platelet adhesion]. *Zabaykal'skiy meditsinskiy vestnik – Transbaikalian Medical Bulletin, 2002, no. 1, pp. 14-17.*
14. Solpov A.V. Vliyanie tsitokinov na limfotsitarno-trombotsitarnuyu adgeziyu [Cytokines influence on lymphocyte-platelet adhesion]. *Tromboz, gemostaz, reologiya – Thrombosis, Hemostasis and Rheology, 2002, no. 1, pp. 34-36.*
15. Savion N., Shenkman B., Brill G., Solpov A., Vitkovsky Y., Kuznik B.I., Koltakov A., Kotev-Emeth S., Bank I. Platelets Promote CD4+ Lymphocyte Adhesion to Extracellular Matrix and Fibronectin Under Flow: Role of Integrins, CD40 Ligand and P-Selectin Glycoprotein Ligand-1. *Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2005, vol. 3, suppl. 1, P0929.*