

## ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ АУТОРОЗЕТОК И ТРОМБОЦИТАРНЫХ АГРЕГАТОВ В ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ КРОВИ

Бельченко Д.И., Есипова А.В., Кривошеина Е.Л.  
*Тверская Государственная Медицинская Академия, Тверь*

**Активация лейкоцитов и тромбоцитов циркулирующей крови детей при неотложных состояниях сопровождается интенсификацией образования в ней клеточных ассоциаций, представленных ауторозетками, образованными лейкоцитами из эритроцитов, и тромбоцитарными агрегатами. Циркуляция в крови значительных количеств этих клеточных ассоциаций способна вызвать ухудшение её реологических свойств и соответственно нарушения микроциркуляции. Поскольку эритроциты, входящие в состав ауторозеток и контактирующие с тромбоцитами, подвергаются экзоцитарному лизису, это приводит к поступлению в циркулирующую кровь эритроцитарных прокоагулянтов и увеличивает возможность тромбообразования. Поэтому интенсификацию образования ауторозеток и тромбоцитарных агрегатов можно рассматривать как патогенетические факторы нарушений микроциркуляции при неотложных состояниях.**

Многочисленные патологические состояния сопровождаются существенным снижением артериального давления и соответственно этому замедлением кровотока в системе микроциркуляции. Замедление кровотока и расстройства микроциркуляции возникают и при состояниях, не сопровождающихся снижением артериального давления. Так, при тяжёлых формах железодефицитной анемии наблюдали множественные очаги микрозастоя, сладж-феномен в виде зернистости кровотока в артериолах и венах, появление полей запустевания [18]. Между тем динамическая структура кровотока сохраняется только при определенной скорости движения крови. Поэтому замедление кровотока неизбежно сопровождается нарушением его структуры, следствием чего является адгезия лейкоцитов к эндотелию венозных микрососудов [8,14,15] и дальнейшее нарастание замедления кровотока вплоть до его кратковременной остановки в капиллярном русле [8]. При этом адгезии лейкоцитов способствует увеличение в этих условиях адгезивности эндотелия микроциркуляторного русла [14]. Следует отметить, что адгезия лейкоцитов является важнейшей функцией, обеспечивающей их взаимодействие с эндотелием и другими клетками крови [13]. Адгезия лейкоцитов сопровождается сдавлением микрососудов, обусловленным мощной инфильтрацией лейкоцитами тканей, окружающих сосуды [8,15]. В этих условиях даже при устранении причин нарушений транспорта кислорода восстановления микроциркуляции не происходит, то есть имеет место возникновение феномена «но-рифлоу» [8]. Таким обра-

зом, изменения межклеточных взаимодействий, то есть взаимодействий лейкоцитов и эндотелиоцитов, образование лейкоцитарных конгломератов [8] в условиях экстремальных состояний способны привести к глубоким расстройствам микрогемодинамики. Однако характер изменений межклеточных взаимоотношений при этих состояниях не исчерпывается адгезией лейкоцитов к стенкам микрососудов, образованием лейкоцитарных конгломератов и сдавлением микрососудов лейкоцитарными инфильтратами. Нашими исследованиями, результаты которых приводятся ниже, установлены изменения межклеточных взаимодействий между лейкоцитами, эритроцитами и тромбоцитами циркулирующей крови при неотложных состояниях, которые могут иметь значение в патогенезе расстройств микроциркуляции и отражают участие системы крови в реакциях адаптации организма к экстремальным ситуациям [19].

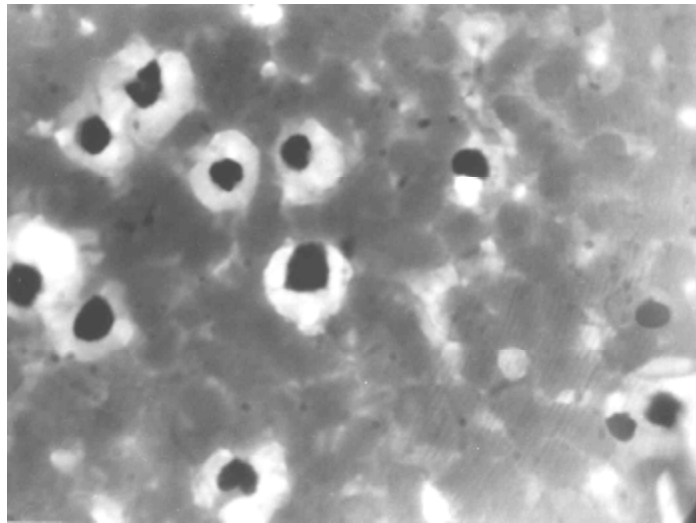
### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.

Исследованы мазки крови детей с неотложной патологией, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии Тверской детской областной клинической больницы. Причиной направления больных было резкое (до критического) ухудшение их состояния, вызванное утяжелением предшествовавших заболеваний, травмами и ожогами. Обследовано 5 групп больных с неотложной патологией. Первую группу составили 10 ожоговых больных, вторую – 9 больных с врожденными пороками развития органов пищеварительного тракта, третью – 5 травмированных детей, четвертую – 5 больных с

респираторным дистресс - синдромом, пятую – 5 больных со злокачественными опухолями, шестая группа была смешанной. В неё входили больные с ишемическими поражениями головного мозга (два), сепсисом (один), внутриутробной инфекцией (один), отравлениями (два), апластической анемией (один), пневмонией (один), острым лимфобластным лейкозом (один).

Кровь для исследования брали до проведения интенсивной терапии или в её начале. Возраст обследованных больных детей колебался от 2<sup>х</sup> суток до 16 лет. В контрольных исследованиях использовали мазки крови здоровых детей до-

школьного и школьного возраста. Мазки крови, окрашенные по Романовскому – Гимзе, исследовали световой микроскопией. Подсчитывая лейкоцитарную формулу, учитывали количество эндогенных ауторозеток (АР), образованных лейкоцитами из эритроцитов. За АР принимали клеточные ассоциации, состоящие из 3-7, иногда и более, эритроцитов, тесно контактирующих с центрально расположенным розеткообразующим лейкоцитом (рис.1) [3]. Количество АР, равно как и других, встречающихся в мазках клеточных ассоциаций, относили к 200 лейкоцитам.



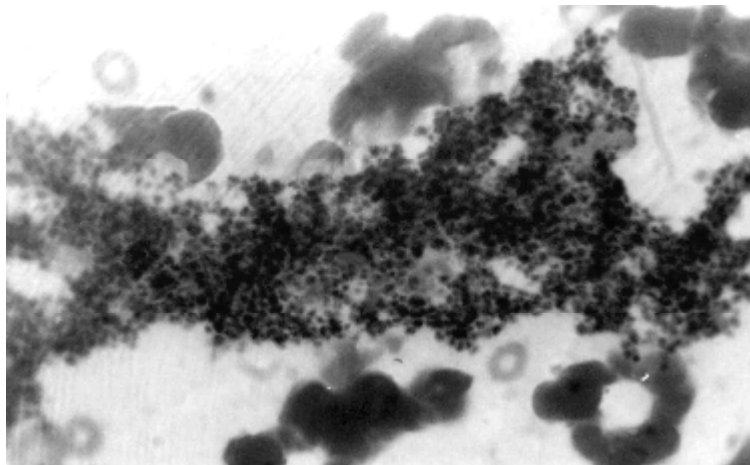
**Рисунок 1.** Ауторозетки с экзоцитарным лизисом эритроцитов розеткообразующими лейкоцитами. Стрелками указаны лизируемые эритроциты.

В последующем, зная содержание лейкоцитов в крови, рассчитывали абсолютное количество содержащихся в единице её объема АР и других клеточных ассоциаций.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ.

При микроскопии мазков крови ургентных больных буквально бросилось в глаза необычно

большое количество (таблица) содержащихся в ней АР, образованных в основном нейтрофилами и моноцитами. При этом в значительной части АР в цитоплазме эритроцитов в местах их контакта с розеткообразующими лейкоцитами появлялись вакуоли, лишенные гемоглобина, то есть, происходила деструкция эритроцитов путем их экзоцитарного лизиса (рис. 2).



**Рисунок 2.** Тромбоцитарный агрегат. Стрелками указаны лизируемые тромбоцитами эритроциты

Возникновение экзоцитарного лизиса эритроцитов вызвано активацией нейтрофилов стимуляторами поврежденных тканей (что имело место при исследованных состояниях) или бактериальными стимуляторами [9], в результате которой происходит слияние их мембран с мембранами клеток-мишеней и переход гранул в клетки-мишени [12]. Одновременно может происходить и экзоцитарная дегрануляция [9,12], приводящая к освобождению литических ферментов и активных форм кислорода, обладающих деструктивными свойствами и способных осуществить экзоцитарный лизис клеток-мишеней [10,11]. Нарастание интенсивности ауторозеткообразования обусловлено увеличением адгезивности, являющейся важнейшей функцией лейкоцитов [13], так как именно она обеспечивает их взаимодействие с клетками-мишенями и в том числе с эндотелием.

В крови здоровых детей содержание АР невелико [3]. По нашим данным их образуют лишь 2-6% лейкоцитов. Иногда АР в крови здоровых детей вообще отсутствуют. Экзоцитарный лизис эритроцитов при этом наблюдался редко, он выявлен в крови 2-х детей из 22. обследованных (таблица).

При неотложных состояниях содержание АР в крови больных многократно увеличивается, в розеткообразование участвуют от 8 – до 30%, а при сепсисе – 60% лейкоцитов. При этом примерно в четверти АР происходит экзоцитарный лизис эритроцитов (таблица). Интенсификация ауторозеткообразования и гемолиза, происходящего в АР, наблюдалась в крови всех обследованных с относительно небольшими количественными различиями. Наиболее интенсивно эти процессы происходили в крови детей при респираторном дистресс-синдроме, врожденных пороках пищеварительного тракта и травмах (таблица). Если учесть, что в АР подвергается экзоцитарному лизису чаще всего 5-7 эритроцитов, иногда и более, можно заключить, что интенсификация ауторозеткообразования сопровождается значительным гемолизом и соответственно поступлением дериватов цитоплазмы эритроцитов, в том числе и эритроцитарных прокоагулянтов [17], в циркулирующую кровь.

Многократное увеличение образования лейкоцитами АР в периферической крови свидетельствует об активации этих клеток при исследованных неотложных состояниях. Следствием резкой интенсификации ауторозеткообразования является появление в циркулирующей крови существенного количества клеточных ассоциаций, какими являются АР. Это может привести к ухудшению реологических свойств крови и соответственно к нарушениям микроциркуляции.

Интенсивный лизис эритроцитов в большом количестве АР сопровождается поступлением в кровь эритроцитарных прокоагулянтов [17] и увеличением возможности тромбообразования. Кроме того, при разрушении эритроцитов происходит и освобождение АТФ, что стимулирует адгезию и агрегацию тромбоцитов [17]. Возможно, этим объясняется наблюдавшееся при активации ауторозеткообразования появление большого количества тромбоцитарных агрегатов. Поэтому интенсификацию ауторозеткообразования в циркулирующей крови нельзя рассматривать как безобидное явление. К тому же активация ауторозеткообразования косвенно свидетельствует об увеличении адгезивности лейкоцитов. Поэтому можно полагать, что адгезия лейкоцитов к эндотелию сосудов объясняется не только увеличением адгезивности эндотелия [14], но и увеличением адгезивности лейкоцитов. Следовательно, активация ауторозеткообразования и адгезия лейкоцитов к эндотелию являются параллельно протекающими процессами. В таком случае усиление ауторозеткообразования может быть признаком развивающейся адгезии лейкоцитов к сосудистым стенкам. Совокупность этих двух процессов способна вызвать серьезные расстройства микроциркуляции.

Кроме изложенного, интенсивный гемолиз, осуществляемый розеткообразующими лейкоцитами, является свидетельством увеличения их цитотоксичности. Это даёт основание полагать, что активация ауторозеткообразования и гемолиза обусловлена в крови исследованных больных праймированием нейтрофилов и других видов розеткообразующих лейкоцитов. Праймированные нейтрофилы, одна из фракций функционально неоднородной их популяции, подготовлены к последующей активации и обладают большим цитотоксическим потенциалом. Их цитотоксичность может быть направлена против структур собственного организма [1]. Эти явления возникают при ишемии/реоксигенации, ожогах, травмах, сепсисе, в постоперационном периоде, после ангиопластических операций [1] и так далее. Поэтому и в наших исследованиях мы наблюдали одну из сторон деятельности праймированных лейкоцитов, главным образом представленных нейтрофилами, цитотоксический потенциал которых был направлен против ауторозеткообразования и последующем экзоцитарном лизисе эритроцитов.

Одновременно с активацией ауторозеткообразования и гемолиза в мазках крови ургентных больных наблюдалось появление большого количества тромбоцитарных агрегатов, состоящих из десятков тромбоцитов и имеющих разнооб-

разную, нередко разветвленную форму. В то же время в мазках крови трех из 22 здоровых детей тромбоцитарные агрегаты отсутствовали, у остальных наблюдались в небольшом количестве.

Тромбоцитарные агрегаты в результате их взаимодействия с эритроцитами образовывали с ними плотные контакты, аналогичные контактам розеткообразующих лейкоцитов с эритроцитами. В итоге возникающих тромбоцитарно - эритроцитарных взаимодействий в участках цитоплазмы эритроцитов в местах их контакта с тромбоцитарными агрегатами наблюдалось возникновение вакуолей, как это происходило в АР, образованных лейкоцитами, то есть происходил экзоцитарный лизис эритроцитов. Образование тесных контактов тромбоцитарных агрегатов с эритроцитами обусловлено наличием в гранулах тромбоцитов иммуноглобулинов, являющихся молекулами адгезии [16], специфически соединяющимися со своими лигандами на поверхности соответствующих антигенов, что и приводит к осуществлению межклеточной адгезии. Активированные тромбоциты, а именно они образуют тромбоцитарные агрегаты, выделяют литические ферменты, протеазы, агрессивные белки, цитотоксические свободные радикалы [7]. Это и приводит к деструкции эритроцитов в местах их контакта с тромбоцитарными агрегатами, то есть их экзоцитарному лизису. Механизм цитотоксического действия тромбоцитов хорошо известен: освобождая цитотоксический коктейль, и орошая им клетки-мишени, тромбоциты вызывают их деструкцию [4].

Экзоцитарный лизис эритроцитов тромбоцитарными агрегатами был выявлен лишь в мазках крови двух здоровых детей, у остальных он протекал с небольшой интенсивностью. В крови детей с неотложной патологией наблюдалось резкое многократное увеличение абсолютного количества тромбоцитарных агрегатов. Экзоцитарный лизис эритроцитов тромбоцитами также протекал со значительно большей интенсивностью и в несколько раз превышал интенсивность экзоцитарного лизиса эритроцитов тромбоцитарными агрегатами крови здоровых детей. Наибольшее количество тромбоцитарных агрегатов и соответственно наибольшая интенсивность лизиса ими эритроцитов наблюдались в крови детей с травмами, несколько меньшее - при врожденных пороках развития пищеварительного тракта. Самое большое количество тромбоцитарных агрегатов выявлено в крови больного с сепсисом –  $9,1 \cdot 10^9$ /л, из них  $3,2 \cdot 10^9$ /л были с экзоцитарным лизисом эритроцитов.

Появление в крови больных большого количества тромбоцитарных агрегатов может быть объяснено результатами исследований Л.А. Бо-

керия и сотрудников, установивших, что при ишемии происходит активация гликопротеидных комплексов тромбоцитов, являющихся рецепторами для фибриногена, что и приводит к образованию тромбоцитарных агрегатов. Поэтому авторы полагают, что тромбоцитарные агрегаты – это «соединенная друг с другом молекулами фибриногена группа активированных тромбоцитов».[5]<sup>1</sup>

Появление в крови urgentных больных больших количеств АР и тромбоцитарных агрегатов и осуществляемый в этих клеточных ассоциациях гемолиз с освобождением эритроцитарных прокоагулянтов способны существенно ухудшить реологические свойства крови, увеличить возможность активации тромбообразования и нарушения микроциркуляции. Поэтому чрезмерную активацию межклеточных взаимодействий в циркулирующей крови можно рассматривать наряду с прочими факторами, участвующими в развитии синдрома гиперкоагуляции крови, как компенсаторные (скрытые) реакции ДВС-синдрома у urgentных больных, развивающиеся в ответ на воспалительный и гемостатический стресс, сопровождающий ожоги, травмы, сепсис и другие виды патологии.[6] Их можно рассматривать также как патогенетические факторы нарушений микроциркуляции при экстремальных состояниях.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Активация лейкоцитов и тромбоцитарной системы при неотложных состояниях сопровождается интенсификацией образования в крови клеточных ассоциаций, представленных АР, образованными лейкоцитами из эритроцитов, и тромбоцитарными агрегатами. Циркуляция в крови значительных количеств этих клеточных ассоциаций способна вызвать ухудшение её реологических свойств и соответственно нарушения микроциркуляции. Поскольку эритроциты, входящие в состав АР и контактирующие с тромбоцитами, подвергаются экзоцитарному лизису, это приводит к поступлению в циркулирующую кровь эритроцитарных прокоагулянтов и увеличивает возможность тромбообразования. Поэтому можно заключить, что интенсификацию ауторозеткообразования и образования тромбоцитарных агрегатов можно рассматривать как патогенетические факторы нарушений микроциркуляции при неотложных состояниях.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

<sup>1</sup> Л.А. Бокерия, К.Г. Аболмасов, К.М. Морозов. Реологические и гемокоагуляционные свойства крови у больных с поражением артерий дистальной паховой связки с различной степенью региональной ишемии. Клиническая физиология кровообращения, 2004, №1, стр.44.

1. Барсуков А.А., Годков М.А., Земсков В.М., Ветошкин А.И., Диашев А.Н. // Успехи современной биологии. – 2004.-Т.124.- №6. – С.542-554.
2. Л.А.Белова //Биохимия.-1997.-вып.6- С.659-668.
3. Д.И.Бельченко //Гематология и трансфузиология. -1992. - №4. – С. 23-25.
4. Д.И.Бельченко //Иммунология. – 2001. - №1. – С.55-57.
5. Бокерия Л.А., Абалмасов К.Г., Морозов К.М. //Клиническая физиология кровообращения. – 2004. - №1. – С.42-46.
6. Бокерия Л.А., Климович Л.Г., Потехина А.В., Пулято Н.А., Самсонова Н.Н. //Клиническая физиология кровообращения.- 2004. - №1. – С.46-55.
7. Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулуток Е.М., Васильев С.А. //Острая массивная кровопотеря.- Москва, РЭОТАР - Медицина. – 2001.
8. Иванов К.П., Мельникова Н.Н. //Вестник РАМН. – 2004. - №4. – С.3-13.
9. Крейнина М.В., Клебанов Г.И., Кузнецов С.В., Ваколюк Р.М., Владимиров Ю.А. //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1989. - №12. – С.673-676.
10. Лебедева Т.Н., Соболев А.В., Минина С.В., Игнатьева С.М., Баранцевич Е.П. //Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. - №11. – С.11-13.
11. Лю Б.Н. //Успехи современной биологии. – 2003.-Т.123. - №2. – С.147-160.
12. Мацнер Я. //Гематология и трансфузиология. – 1993. - №3. – С.39-42.
13. Маянский А.Н., Челышев И.В., Чеботарь И.В. //Иммунология. – 1993.- №1. – С.23-25.
14. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. //Второй Российский Конгресс по патофизиологии. //Тезисы докладов. Москва 2000. - С. 273-274.
15. Редчиц Е.Г., Гузева В.О. //Лабораторное дело. -1991. - №5. – С.4-8.
16. Ровенский Ю.А. //Биохимия. – 1998. – Т.63.- выпуск 9 – С. 1204-1221.
17. Федорова З.Д., Котовщикова М.А. // Успехи современной биологии. -1982.-выпуск 3 (6). – С. 393-403.
18. Шапов И.А., Моллаева Н.Р. //Гематология и трансфузиология. – 2005.-№2.- С.33-36.
19. Юшков Б.Г. //Всероссийский медицинские вести. – 2004. - №3. – С. 72-73.

**PATHOGENETICHESKOE IMPORTANCE INTENSIFIKACII FORMATION  
AUTOROZE-CURRENT AND TROMBOCITARNYH UNIT IN CIRCULATING SHELTERS**

Belichenko D.I., Esipova A.V., Krivosheina E.L.

In emergencies activation of leukocytes and thrombocytes of circulating blood in children is accompanied by intensification of cellular association's formation in it represented by autorosettes, formed by leukocytes from erythrocytes, and thrombocyte aggregates. Significant number of there cellular associations circulating in blood is capable of causing its rheological properties impairment and microcirculation disorders, respectively. As the erythrocytes that are part of autorosettes and that contact with thrombocytes undergo exocytic lysis, this fact results in entering erythrocyte procoagulants into circulating blood and increases the potential of thrombus formation. That is why in emergencies intensification of autorosettes and thrombocyte aggregates formation may be considered to be pathogenetic factors of microcirculation disorders.