УДК 616.921.5:616.15

Гергесова Е.Е., Витковский Ю.А., Солпов А.В.

АГРЕГАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ, ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНАЯ АДГЕЗИЯ И ГРУППЫ КРОВИ АВО У БОЛЬНЫХ ГРИППОМ A(H1N1)/2009

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия, г. Чита

Изучена вариабельность функции лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) и агрегационной способности тромбоцитов в зависимости от групповой принадлежности крови по системе ABO у 56 больных гриппом A(H1N1)/2009. Выявлено, что функция лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и способность тромбоцитов адгезироваться на поверхности лимфоцитов у пациентов с осложненным течением ОРВИ повышена, что не зависит от групповой принадлежности крови по системе ABO. Спонтанная агрегация кровяных пластинок выше у пациентов, чем у здоровых лиц, что сопровождается снижением интенсивности ответа на индукторы. У пациентов с I (0) группой крови спонтанная агрегация выше, чем в "ненулевых" группах.

Ключевые слова: группы крови AB0, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия, агрегация тромбоцитов, грипп A(H1N1).

Gergesova E.E., Vitkovsky Yu.A., Solpov A.V. PLATELET AGGREGATION AND LYMPHOCYTE-PLATELET ADHESION IN DIF-FERENT ABO BLOOD GROUPS IN PATIENTS WITH INFLUENZA A(H1N1)/2009

Variability of lymphocyte-platelet adhesion (LPA) and platelet aggregation was studied in 56 patients with different AB0 blood groups ill with influenza A(H1N1)/2009. LPA and adhesive ability of platelet were increased in all patients regardless to AB0 blood group. Spontaneous platelet aggregation accompanied by decreased response to inductors was revealed to be elevated in patients with influenza in comparison with healthy subjects. Patients with I (0) blood group are characterized by an increased spontaneous aggregation compared with subjects with non-0 blood groups.

Key words: AB0 blood groups, lymphocyte-platelet adhesion, platelet aggregation, influenza A(H1N1)/2009.

Введение. Как известно, тромбоциты играют ключевую роль не только в реакциях гемостаза, но и воспаления [1-4,7,12,15-18]. Они непосредственно взаимодействуют с бактериальными агентами [15,18], активируются эндотоксином [15], способствуют миграции лейкоцитов в зону воспаления и активируют другие клетки, участвующие в воспалительных реакциях [2-4,12,16,17]. Таким образом, роль кровяных пластинок, как связующего звена между воспалением и системой гемостаза, неоспорима и в целом сводится к формированию гетеротипических межклеточных контактов, одним из видов которых является лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия (ЛТА).

ЛТА - физиологическая реакция, необхо-

димая для реализации свойств единой защитной системы организма, объединяющей иммунитет и гемостаз [1-4,20], а формирование лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов способствует активации интактных кровяных пластинок. Не вызывает сомнений, что в развитие воспаления при этом вовлекаются все защитные системы организма, что сопровождается активацией иммунитета и гемостаза, а роль кровяных пластинок и лимфоцитарно-тромбоцитарных коагрегатов неоспорима. Накоплены данные о роли ЛТА в патогенезе различных заболеваний [1-4,20], однако, не изучены ее особенности при гриппе $A(H_1N_1)/2009$, особенно в связи с функцией кровяных пластинок и в зависимости от групповой принадлежности крови по системе АВО.

Конституциональная активность кровяных пластинок зависит, в том числе, и от групповой принадлежности крови по системе AB0 [5,11,13,14,19]. При этом у носителей II (A), III (B) и IV (AB) групп увеличена активность фактора фон Виллебранда (vWF) и фактора VIII [14,19], а у обладателей I (0) группы снижена экспрессия GpIIb/IIIа на тромбоцитах [12] и повышена активность фермента ADAMTS-13, разрушающего гигантские мультимеры vWF [11].

Ранее установлено, что у здоровых людей со II (A), III (B) и IV (AB) группами крови, по сравнению с І (0), в периферической крови повышено содержание тромбоцитов, хотя их число не выходит за пределы средних показателей нормы, а также повышена спонтанная агрегационная активность тромбоцитов и реакция на коллаген [5]. При этом способность тромбоцитов образовывать агрегаты с лимфоцитами в "ненулевых" группах, по сравнению с первой, снижена, что обратно агрегационной коррелирует c их активностью [5].

Целью настоящей работы явилось выявление связи между групповой принадлежностью крови по системе AB0, лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезией и агрегацией тромбоцитов у больных гриппом $A(H_1N_1)/2009$ по сравнению со здоровыми лицами.

Материалы и методы. Исследовалась венозная кровь 122 условно-здоровых лиц и 56 больных гриппом A(H₁N₁)/2009. Наблюдения проводились на базе лаборатории физиологии и патологии иммунитета и гемостаза НИИ Медэкологии ГОУ ВПО ЧГМА, куда доставлялась кровь больных гриппом из стационаров г.Чита в период эпидемии гриппа A(H₁N₁)/2009. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации, World Medical Association Declaration of Helsinki (1964). Определение показателя лимфоцитарно-

тромбоцитарной адгезии проводили по методике Ю.А. Витковского [3], лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс (ЛТИ) оценивали как среднее арифметическое количество тромбоцитов, присоединившихся к одному лимфоциту. Оценку агрегационной способности тромбоцитов осуществляли турбидиметрическим методом по G. Born (1962) с помощью лазерного анализатора агрегации Biola (НПФ "Биола", Москва): исследовали спонтанную, АДФ-, адеранлин- и коллагениндуцированную агрегацию с использованием соответствующих реактивов, выпускаемых ООО "Технология-стандарт" (Барнаул). Группы крови АВО определялись общепринятым методом с использованием реакции изогемагглютинации на планшете при помощи цоликлонов анти-А и анти-В (ООО "Гематолог", Россия, Москва). Статистическая обработка результатов выполнена параметрическими методами (tтест) при нормальном распределении признака с использованием пакета программ Microsoft Office Excel 2007, с определением статистической значимости различий при р<0,05. Изучаемые показатели представлены в виде средних величин со стандартным отклонением (M±SD).

Результаты исследований и их обсуждение. Нами установлено, что среди здоровых лиц обладатели I (0) группы крови составляли 36%, II (A) - 30%, III (B) - 26% и IV (AB) - 8%. Полученные данные соответствуют сведениям, имеющимся в литературе для Европейской части России [6,7,10]. Среди пациентов людей с I(0) группой крови оказалось 47% (26 человек), II(A) - 26% (15 человек), III(B) - 22% (12 человек), IV(AB) - 5% (3 человека). По причине малого количества испытуемых - обладателей четвертой группы крови они были исключены из исследования.

В первой серии экспериментов мы решили выявить особенности ЛТА у больных гриппом A(H1N1)/2009. Известно, что у здоровых лиц ЛТА составляет 14±2% [2,3]. У больных показатель ЛТА оказался

на уровне $16\pm2\%$ (t-тест, p<0,05), что отражает активацию единой клеточногуморальной системы защиты организма в ответ на внедрение инфекционного агента. Средний показатель ЛТИ у больных составил $3,5\pm0,3$, тогда как у здоровых лиц он находится в пределах $2,9\pm0,2$ (t-тест, p<0,05), что говорит об усилении способности тромбоцитов адгезироваться на поверхности лимфоцитов у больных гриппом $A(H_1N_1)/2009$. При этом у больных не наблюдается различий этих показателей в зависимости от группы крови (табл.1).

Таблица 1 ЛТА и ЛТИ у больных гриппом $A(H_1N_1)/2009$ в зависимости от групповой принадлежности крови по системе AB0

Группы крови	ЛТА, %	ЛТИ, абсолютное число		
I (0) n=26	15±2	3,4±0,3		
II (A) n=15	17±2	3,7±0,3		
III (B) n=12	15±2	3,3±0,3		

В следующей серии экспериментов мы изучили агрегацию тромбоцитов у больных с различной групповой принадлежностью крови и сравнили ее с показателями здоровых лиц (табл.2 и 3).

Таблица 2 Максимальный радиус агрегатов (отн.ед.) и максимальный наклон (отн.ед.в мин.) кривых агрегации тромбоцитов у больных гриппом в зависимости от групповой принадлежности крови по системе AB0 (M SD)

Группы крови	Агрегация тромбоцитов							
	спонтанная		АДФ (5 мкг/мл)		Адреналин (5 мкг/мл)		Коллаген (1 мг/мл)	
	М.знач.	М.накл.	М.знач.	М.накл.	М.знач.	М.накл.	М.знач.	М.накл.
I (0) n=26	1,6±0,1	0,7±0,1	7,8±0,5	19,9±1,9	7,2±0,5	10,8±1,8	6,9±0,4	16,3±1,6
II (A) n=15	1,2±0,1 p<0,05	0,5±0,1	8,6±0,7	22,7±2,9	6,8±0,6	8,0±1,3	7,3±0,6	16,0±2,8
III (B) n=12	1,4±0,2	0,5±0,1	6,7±0,6	14,6±2,4 p<0,05	6,0±0,7	7,2±1,5 p<0,05	6,4±0,5	13,0±2,1

Где р - статистическая значимость различий по сравнению с І (0) группой крови.

Как видно из приведенной таблицы, максимальный размер агрегатов, образующихся в ходе спонтанной агрегации кровяных пластинок, оказывается выше у пациентов с I (0) группой крови. Вместе с тем индуцированная АДФ и адреналином агрегация тромбоцитов, а именно скорость ее наступления, снижена у пациентов с III (В) группой крови, в то время как практически не различается реакция на коллаген. Ранее было выявлено, что у здоровых лиц со II (А), III (В) и IV (АВ) группами крови повышено содержание

тромбоцитов, увеличена их спонтанная агрегационная активность, а также повышена способность образовывать конгломераты, если в качестве агрегирующего агента используется коллаген [5]. Оказывается, что функциональная активность кровяных пластинок в зависимости от групп крови у больных гриппом $A(H_1N_1)/2009$ не соответствует таковой здоровых лиц.

Как демонстрирует приведенная таблица, у больных с I (0) группой крови максимальный радиус спонтанно

Таблица 3 Максимальный радиус агрегатов (отн.ед.) и максимальный наклон (отн.ед.в мин.) кривых агрегации тромбоцитов у здоровых лиц и больных гриппом с различной групповой принадлежностью крови по системе AB0 (M SD)

		I (0)		II (A)		III (B)	
		Здоровые n=45	Больные n=26	Здоровые n=37	Больные n=15	Здоровые n=32	Больные n=12
Спонтанная	Макс.знач.	1,1±0,1	1,6±0,1 p<0,05	1,2±0,1	1,3±0,1	1,2±0,1	1,4±0,2
	Макс.накл.	0,5±0,1	0,7±0,1	0,5±0,1	0,7±0,1	0,5±0,1	0,6±0,1
АДФ (5 мкг/мл)	Макс.знач.	9,6±0,5	7,8±0,5 p<0,05	8,5±0,6	8,6±0,7	10,1±0,5	6,7±0,6 p<0,05
	Макс.накл.	29,5±1,9	19,9±1,9 p<0,05	22,9±2,3	22,7±2,9	28,8±2,2	14,6±2,4 p<0,05
Адреналин (5 мкг/мл)	Макс.знач.	8,7±0,6	7,2±0,5 p<0,05	7,1±0,4	6,8±0,6	8,8±0,4	6,0±0,7 p<0,05
	Макс.накл.	12,8±2,5	10,8±1,8	12,6±1,5	8,0±1,3 p<0,05	13,2±1,6	7,2±1,5 p<0,05
Коллаген (1 мг/мл)	Макс.знач.	7,7±0,5	6,9±0,4	7,3±0,9	7,3±0,6	8,5±0,6	6,4±0,5 p<0,05
	Макс.накл.	19,1±1,7	16,3±1,6	15,9±1,2	16,0±2,8	24,6±2,2	13,0±2,1 p<0,05

Р - статистическая значимость различий по сравнению со здоровыми.

образующихся агрегатов больше, чем у здоровых лиц той же группы. В "ненулевых" группах не наблюдается статистически значимых различий между указанными показателями у здоровых и больных. Показатель индуцированной АДФ агрегации, как по степени, так и по скорости, оказывается ниже у больных с I (0) и III (В) группами крови, подобным образом изменен ответ на адреналин, что наблюдается и у обладателей II (А) группы крови. При этом реакция на коллаген снижена только у больных с III (В) группой.

Изменение активности тромбоцитов при вирусной инфекции связывается с особенностями вируса. Так, нейраминидаза вируса способна расщеплять сиаловые кислоты на поверхности мембраны тромбоцитов, что может приводить к появлению на их поверхности "антигенов старения" и как следствие к скорейшей их элиминации ретикулоэндотелиальной системой [16]. Кроме того, вирусы, лишенные нейраминидазы, тоже способны

изменять активность кровяных пластинок. При этом наблюдается выделение тромбоцитами серотонина в отсутствии индуцирующих воздействий, и, вместе с тем, ингибируется агрегация, индуцируемая АДФ, коллагеном и тромбином [18]. Возможно, и этим объясняется усиление спонтанной агрегации на фоне снижения ответа на индукторы. Кроме того, течение гриппа А(Н, N,)/2009 связано с присоедибактериальной вторичной инфекции и развитием вирусно-бактериальных пневмоний [8], что, несомненно, влечет активацию и неспецифических факторов защиты. При этом активированные нейтрофилы выделяют активные формы кислорода, что ингибирует а1антитрипсин и высвобождает эластазу, которая разрушает мультимеры фактора фон Виллебранда [7]. При индукции кровяных пластинок коллагеном, их склеивание осуществляется при участии фактора фон Виллебранда (vWF), взаимодействующего с коллагеном главным образом через GpIb.

Поэтому при гриппе А(H1N1)/2009 наблюдается снижение интенсивности ответа тромбоцитов на коллаген. С другой стороны, снижение агрегационной активности тромбоцитов in vitro может наблюдаться на фоне усиления агрегационного потенциала іп vivo, что отражается в увеличении максимального размера спонтанно образующихся агрегатов у больных с І (0), потенциально "атромбогенной" группой крови, и снижением ее у обладателей "тромбогенных" ненулевых групп. Возможно, это объясняется потреблением функционально активных кровяных пластинок у лиц с конституционально повышенным агрегационным потенциалом.

Заключение. Таким образом, установлено, что функция лимфоцитарнотромбоцитарной адгезии и способность тромбоцитов адгезироваться на поверхности лимфоцитов у больных гриппом А(Н, N,)/2009 повышена, что является отражением общей воспалительной реакции и не зависит от групповой принадлежности крови по системе АВО. Вместе с тем у больных с I (0), потенциально "атромбогенной" группой крови, по сравнению со здоровыми лицами, отмечается усиление спонтанной агрегации тромбо-цитов на фоне снижения ответа на индукторы, а также усиление спонтанной агрегации пластинок по сравнению с "ненулевыми группами".

ЛИТЕРАТУРА.

- 1. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Говорин А.В. и соавт. Система гемостаза, лейкоцитарно-тромбоцитарные взаимоотношения, белки острой фазы воспаления и цитокины у больных с различными формами ишемической болезни сердца // Тромбоз, гемостаз и реология. 2009. №1. С. 49-63.
- 2. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии // Медицинская иммунология. 2006. т. 8. № 5 6.- С. 745 753.
- 3. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов

- А.В. Феномен лимфоцитарнотромбоцитарного розеткообразования / Иммунология. 1999. №4. С. 35-37.
- 4. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Взаимодействие лейкоцитов и тромбоцитов с эндотелием и ДВС-синдром // Тромбоз, гемостаз и реология. 2006. №1. С.15-28.
- 5. Гергесова Е.Е. Группы крови, агрегация тромбоцитов и лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия // Тромбоз, гемостаз и реология. 2009. №3. С. 37- 42.
- 6. Жибурт Е.Б. Трансфузиология. Москва-Санкт-Петербург: Питер. - 2002.
- 7. Кузник Б.И., Максимова О.Г. Общая гематология и гематология детского возраста. 2007.
- 8. Интенсивная терапия тяжелых осложненных форм гриппа A(HINI) и сезонного гриппа у беременных / Т.Е. Белокриницкая [и др.] // Здравоохранение. 2010. №1. С. 39-47.
- 9. Струкова С.М. Роль тромбоцитов и сериновых протеиназ в сопряжении свертывания крови и воспаления // Биохимия. 2004. Том 69. Вып. 10. С. 1314-1331.
- Томилин В.В., Гуртовая С.В. Частота встречаемости антигенов системы АВО у населения Российской Федерации // Судебно-медицинская экспертиза. 1999. № 3. С. 16 18.
- 11. Boven D.J. An influence of ABO blood groop on the rate of proteolysis of von Willebrandt factor by ADAMTS13 // Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2003. №1. P. 33-40.
- 12. Davi G., Patrono C. Platelet Activation and Atherothrombosis // The New England Journal of Medicine. 2007. №357. P. 2482-2494.
- 13. Feuring M., Harenberg O., Peiter A. et al. Impact of ABO blood groups on tirofiban mediated inhibition of platelet function // Platelets. 2005. №7. P. 430-434.
- 14. Jenkins P.V., O,Donnell J.S. ABO blood group determines plasma fon Willebrand factor levels: a biologic function after all // Transfusion. 2006. Vol. 46. P. 1836-1844.
- 15. J.Ross Fitzgerald, Timothy J.F., Dermot Cox.

- The interaction of bacterial pathogen with platelets // Microbiology. 2006. vol.4. P. 445-457.
- 16. Meinrad G., Harald L., Andreas E. Platelets in inflammation and atherogenesis // The journal of clinical investigation. 2005. vol.115.
 № 12. P. 3378-3384.
- 17. O'Brien, L. et al. Multiple mechanisms for the activation of human platelet aggregation by Staphylococcus aureus: roles for the clumping factors ClfA and ClfB, the serine-aspartate repeat protein SdrE and protein A// Mol. Microbiol. 2002. № 44. P. 1033-1044.
- 18. Pitchford S.C. Novel uses for anti-platelet

- agents as anti-inflammatory drugs // British Journal of Pharmacology. 2007. №152. P. 987-1002.
- 19. Sousa N.C., Anicchino-Bizzacchi J.M., Locatelli M.F. et al. The relationship between ABO groups and subgroups, factor VIII and von Willebrand factor // Haematologica/the hematology journal. 2007. № 2(02). P. 236-239.
- 20. Vitkovsky Y, Kuznik B., Solpov A. et al. Status of platelet-lymphocyte aggregation in circulating blood of patients type 1 diabetes with and without diabetic nephropathy.// IMAJ. 2008. №10. P. 691 694.