

УДК: 612.151.5

Карпова Н.И., Малезик Л.П., Кузник Б.И.  
**НЕКОТОРЫЕ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЯ  
МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ У ДЕТЕЙ С  
РЕСПИРАТОРНО-ВИРУСНЫМИ  
ИНФЕКЦИЯМИ**

ГОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия Росздрава (ректор – заслуженный врач РФ, д.м.н., профессор А.В.Говорин)

**Резюме.** Проведено исследование крови детей с частыми респираторными вирусными инфекциями. В исследуемой крови выявлены гиперкоагуляция и повышенная коагрегация форменных элементов крови: увеличение числа лимфоцитарно-тромбоцитарных, эритроцитарно-тромбоцитарных, лейкоцитарно-эритроцитарных розеток.

**Ключевые слова:** гиперкоагуляция, лимфоцитарно-тромбоцитарно-эритроцитарные коагрегаты

**Summary.** Children 60 with palindromic ARI are examined. Activity of phagocytes, cell-cell aggregation and haemostatic function of blood are determined. Hypercoagulation of blood, elevation of lymphocyte-platelet, erythrocyte-leukocyte and erythrocyte-platelet aggregates' number is found.

**Key words:** ARI, children, haemostatic, hypercoagulation, lymphocyte - platelet - erythrocyte adhesion

**Введение.** Респираторно - вирусные инфекции являются самыми распространенными заболеваниями у детей. В большинстве случаев наиболее высокий уровень заболеваемости отмечают у детей в возрасте от 3 до 14 лет. Известно, что частые вирусные инфекции обуславливают в дальнейшем высокую вероятность хронической патологии. Причиной тому являются персистирующие вирусные агенты, которые поддерживают воспалительные реакции, вызывают иммуносупрессию, облегчают проникновение бакте-

риальных инфекций и играют значительную роль в формировании осложнений. Патогенетической основой частых ОРВИ у детей является иммунологическая недостаточность и, полагают, что она врожденная [10]. В основе снижения противоинфекционной резистентности детей лежат изменения не только иммунной системы, но и гемостаза, так как обе системы функционально тесно взаимосвязаны [14,17]. Однако у детей, часто болеющих ОРВИ, гемостатические реакции практически не изучались. Кроме того, совершенно не анализированы агрегационные свойства крови, которые определяют межклеточные взаимодействия, состояние микроциркуляции и трофику тканей, нарушенную в очагах хронических инфекции при вялотекущей патологии у часто болеющих детей.

Исходя из изложенного, целью настоящего исследования явилось изучение гемостатической активности крови больных детей, а также адгезивной способности форменных элементов крови.

#### **Материалы и методы**

Обследовано 60 детей от года, до 8 лет, часто болеющих респираторными вирусными инфекциями. Из числа обследуемых детей у 4-х был грипп (6,6%), у 26 детей парагрипп - (43,3%), у 5 - аденовирусная инфекция (8,3%), у четверых детей был диагностирован респираторно-синцициальный вирус (6,8%). У остальных детей - 21(35%) этиология ОРВИ осталась нерасшифрованной. Контрольную группу составили 25 здоровых детей, сопоставимых по возрасту и полу. Определялись следующие показатели коагуляционного гемостаза: время рекальцификации бедной тромбоцитами плазмы, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), МНО, концентрация фибриногена, растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК). Активность фибринолитической системы оценивалась по зуглобулиновому фибринолизу. Все используемые методы описаны в соответствующем руководстве З.С. Баркагана и А.П. Момота [2].

Исследование экспрессии тканевого фактора моноцитами определяли по методу Santucci et al [23]. Число лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов (ЛТА) подсчитывали в среде выделенных лимфоцитов по методу Ю.А. Витковского и соавт.[8]. Характер и интенсивность эндогенного ауторозеткообразования оценивали в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Подсчитывали общее количество лейкоцитов и определяли число лейкоцитов (из 200 клеток), присоединивших к себе эритроциты - лейкоцитарно-эритроцитарные агрегаты (ЛЭА). При этом за ЛЭА принимали ассоциации, состоящие из 2-х и более эритроцитов, контактировавших с центрально расположенным лейкоцитом. В этих же мазках считали число тромбоцитарно-эритроцитарных агрегатов (ТЭА), из 200 тромбоцитов, присоединивших к себе эритроциты.

Результаты исследования обработаны с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel. Статистический анализ данных включал оценку достоверности отличий, сравниваемых величин по  $t$  - критерию Стьюдента ( $P$ ). Исследуемые параметры приведены в виде средних величин со стандартным отклонением ( $M \pm SD$ ). Различия между группами считались достоверными при значении показателей не менее чем  $p < 0,05$ . Достоверность отличий представлена в таблице в виде "\*".

### **Результаты и обсуждение**

Наши исследования показали, что при рецидиве ОРВИ у часто болеющих детей в крови возникает гиперкоагуляция. Об этом свидетельствует укорочение времени рекальцификации, частичного тромбопластинового времени, удлинение МНО, увеличение концентрации фибриногена и числа фибрин-мономерных комплексов (РФМК) (табл. 1). На фоне ускоренного образования фибрина угнетен фибринолиз, что способствует сохранению фибрина и длительной его циркуляции. Одной из причин гиперкоагуляции при вирусной инфекции является активация иммунокомпетентных клеток, которые экспрес-

сируют на своей поверхности биологически активные соединения, принимающие участие не только в разворачивании иммунных процессов, но и в реакциях системы гемостаза [6]. В частности, моноциты и макрофаги при стимуляции антигеном экспрессируют тканевой фактор, который инициирует образование протромбиназы по внешнему пути [21, 22]. Мы проанализировали возможность такой реакции и определили экспрессию тканевого фактора клетками крови больных детей. Оказалось, что эти клетки значительно быстрее, чем контрольные ускоряют время свертывания крови и могут явиться одной из причин гиперкоагуляции в кровотоке. Избыточный фибрин, образованный при гиперкоагуляции, создает проблемы в транскапиллярном обмене, нарушает микроциркуляцию и ухудшает реологические свойства крови, вызывая клеточные кооперации. В кровотоке, в норме, встречаются единичные агрегаты клеток, которые формируются "старыми" клетками с измененной мембраной и экспрессией адгезивных молекул. Однако при патологии: анемии [6], гипертонии, инфекционном эндокардите [15], ургентных состояниях [3,4] количество клеточных коопераций увеличивается. В физиологических условиях лимфоциты здоровых детей способны образовывать агрегаты с тромбоцитами (ЛТА). Их адгезия в норме составляет  $14 \pm 0,7\%$  от общего числа лимфоцитов (табл. 2). При ОРВИ количество ЛТА увеличивалось до  $21,9 \pm 2,5\%$ . Нарастание ЛТА свидетельствует об активации как лимфоцитов, так и тромбоцитов и является косвенным показателем состояния иммунитета и гемостаза у этих больных. Следует отметить, что общее количество лейкоцитов у обследуемых детей увеличивалось, а абсолютное и относительное содержание лимфоцитов уменьшалось. Однако число лимфоцитов, участвующих в адгезии, возрастает. В последние годы активно изучаются межклеточные взаимодействия между лейкоцитами, эритроцитами и

тромбоцитами и их значение в патологических процессах, протекающих в организме.

При обследовании здоровых детей в крови регистрировались единичные лейкоцитарно-эритроцитарные агрегаты (ЛЭА), которые составляли  $5,3 \pm 0,6\%$  (табл. 3). У детей, страдающих респираторной вирусной инфекцией, число ЛЭА увеличивалось до  $24,9 \pm 2,9\%$ . Лейкоцитарно-эритроцитарные агрегаты формируют нейтрофилы и моноциты, количество которых увеличено у больных детей. Преобладают агрегаты образованные нейтрофилами (у здоровых детей -  $63,3 \pm 3,6\%$ , у больных -  $88,6 \pm 2,5\%$ ). Меньшее число агрегатов формируют моноциты (у здоровых детей -  $37,4 \pm 3,4\%$ , у больных -  $12,4 \pm 2,2\%$ ). Появление ЛЭА сопровождается деструкцией эритроцитов, что обусловлено цитотоксическими свойствами лейкоцитов. Эритроциты формируют розетки не только с лейкоцитами, но и тромбоцитами (ТЭА). В норме подобные коагрегаты встречаются в  $5 \pm 0,4\%$ . При ОРВИ количество тромбоцитарно-эритроцитарных ассоциаций увеличивается до  $32,1 \pm 2,8\%$ . Во всех розетках отмечается экзоцитарный лизис эритроцитов.

Таким образом, в результате проведенных исследований, установлено, что в крови детей при ОРВИ развивается гиперкоагуляция и увеличиваются агрегационные свойства форменных элементов крови. Оба процесса изменяют реологические свойства крови с нарушением микроциркуляции.

Фибрин нарушает пропускную способность капилляров, что способствует гипоксии тканей. Кроме того, фибрин является одним из ведущих белков плазмы, играющих адгезивную роль в клеточных кооперациях [24].

Кроме белков плазмы [1] в механизме образования клеточных ассоциаций определенное значение имеют структурные изменения мембран клеток и появление на их поверхности молекул адгезии [3,19]. Адгезивность - важная функция лейкоцитов, направленная на транссосудистую

миграцию клеток воспаления в ткань для выполнения своих защитных свойств. В норме у здоровых детей адгезивность лейкоцитов выражена слабо, но при патологии, а в данном случае при вирусной инфекции, значительно усилена. Объяснить эти свойства мы можем с позиции данных, имеющихся в литературе. Известно, что лимфоцитарно - тромбоцитарные агрегаты образуют преимущественно CD4+, CD16+. Взаимоотношения лимфоцитов и тромбоцитов осуществляется через адгезивные молекулы. Регулируется этот процесс цитокинами и индукторами агрегации тромбоцитов. Лимфоцитарно - тромбоцитарная адгезия является важным звеном механизмов, обеспечивающих миграцию лимфоцитов в зону повреждения, а, следовательно, воспаления и развития там иммунных и репаративных реакций [8,9]. Поскольку в образовании лимфоцитарно - тромбоцитарных ассоциаций принимают участие активированные клетки, считают, что тест ЛТА отражает функциональное состояние двух систем - иммунитета и гемостаза. В наших исследованиях ЛТА увеличивалась практически в два раза и неудивительно, так как вирусная инфекция сопровождается реакциями иммунной и гемостатической систем. Тромбоциты образуют клеточные кооперации не только с лимфоцитами, но и эритроцитами. Известно, что эритроциты контактируют с другими клетками крови через экспрессированные на поверхность клетки молекулы адгезии ICAM-4. Молекулы адгезии связываются с лигандом на мембране эритроцитов (гликопротеином) IIb/IIIa[20]. Образование эритроцитарно - тромбоцитарных агрегатов приводит к дальнейшей активации тромбоцитов, с выделением факторов воспаления и гиперкоагуляции. В зоне контакта эритроцитов с тромбоцитами, последние выделяют литические ферменты, вызывающие лизис эритроцитов с выделением прокоагулянтов. В условиях нормы эритроциты не способны вступать во взаимо-

действия с другими клетками крови и эндотелием, но при различных патологических состояниях (инфекционный эндокардит, ишемическая болезнь сердца, стенокардия, ургентные состояния) они образуют агрегаты с тромбоцитами и лейкоцитами. Считают, что адгезивные свойства у эритроцитов индуцирует эндотоксинемия [19]. По всей вероятности это так, ибо мы исследовали кровь детей, требующих стационарного лечения и купирования интоксикации. У таких больных в крови эритроцитарно - тромбоцитарных ассоциаций было в 6 раз больше, чем у здоровых. Адгезивности подвержены эритроциты с пониженной резистентностью и деформированной мембраной, они эритроциты лизируются тромбоцитами и лейкоцитами (нейтрофилами и моноцитами). При вирусных инфекциях число лейкоцитарно - эритроцитарных розеток увеличено в 4,6 раз. Большинство таких агрегатов (65%) сопровождается экзоцитарным лизисом эритроцитов. Интенсивный гемолиз, осуществляемый розеткообразующими лейкоцитами является свидетельством увеличения их цитотоксичности [3], что действительно наблюдается при респираторно - вирусной патологии. Мы считаем, что выявленная нами высокая агрегационная активность крови при ОРВИ является патогенетическим звеном развития заболевания. В результате вирусной или бактериальной (при осложнении) стимуляции полиморфноядерных лейкоцитов развертывается местный иммунитет с дефицитом для часто болеющих детей (недостаточный синтез sIgA, лизоцима, снижен фагоцитоз). Тем не менее, клетки, принимающие участие в воспалении (лимфоциты, тромбоциты, нейтрофилы, моноциты) активируются и участвуют в противовирусной защите. Однако при их индукции создаются условия для гиперкоагуляции и коагрегации клеток крови. Образованные клеточные ассоциации затрудняют трансфузию крови в капил-

лярах, что нарушает транскапиллярный обмен. Возникшая гипоксия в тканях осложняет регенерацию и способствует длительному восстановительному периоду при вирусном поражении верхних дыхательных путей и органов носоглотки.

#### **Выводы:**

1. При ОРВИ у часто болеющих детей возникает гиперкоагуляция в кровотоке, с угрозой развития ДВС-синдрома.
2. Увеличенное число лимфоцитарно - тромбоцитарных коагрегатов у детей с частыми респираторно - вирусными инфекциями резко увеличена, что свидетельствует о нарушении клеточного иммунитета и повышенной адгезии кровяных пластинок в кровотоке.
3. У детей с частыми респираторными инфекциями резко увеличено содержание агрегатов, образуемых лейкоцитами с эритроцитами и эритроцитами с тромбоцитами.
4. Наличие экзоцитарного лизиса эритроцитов, находящихся во взаимодействии с лейкоцитами и тромбоцитами, может способствовать тромбообразованию и поддерживать гиперкоагуляцию в крови.

#### **Литература**

1. Асайчев А.В. Влияние окисленного фибриногена на агрегацию активированных тромбоцитов с нейтрофилами / О.А. Азизова, Л.В. Шуленина, А.П. Пирязев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2009. - Т.147. № 3. - С. 284 - 290.
2. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. / З.С Баркаган, А.П. Момот. - М.: Ньюдиамед, 2008. - С. 72-91.
3. Бельченко Д.И. Активация межклеточных взаимодействий в циркулирующей крови и микроциркуляция / Д.И. Бельченко, А.В. Есипова, Е.Л. Кривошеина // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2005. - Т.4, №4. - С.53-57.
4. Бельченко Д.И. Исследования ауторозеткообразования в циркулирующей крови / Д.И. Бельченко // Клиническая лабора-

- торная диагностика. - 1993. № 3. - С 58-62.
5. Бокерия Л.А. Механизмы вовлечения ингибиторов свертывания в развитие воспалительной реакции и перспективные направления антикоагулянтной терапии / Л.А. Бокерия [и др.] // Клиническая физиология кровообращения. - 2004. - №1 - С. 42-46.
  6. Витковский Ю.А. Взаимодействие лейкоцитов с эндотелием и ДВС-синдром / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А. В. Солпов // Тромбоз, гемостаз и реология. - 2006. - №1. - С. 15-28.
  7. Витковский Ю.А. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии/ Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А. В. Солпов // Медицинская иммунология. - 2006. - № 5-6. - С. 745-753.
  8. Витковский Ю.А. Феномен лимфоцитарно - тромбоцитарного розеткообразования/ Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А. В. Солпов // Иммунология. - 1999. - № 4. - С. 35-37.
  9. Волков В.С. К патогенезу нарушений микроциркуляции у больных ишемической болезнью сердца / В.С. Волков [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2005. - Т.4, №4. - С.58-60.
  10. Железникова Г.Ф. Варианты иммуногенеза острых инфекций у детей. / Г.Ф. Железникова, В. В. Иванова, Н.Е. Монахова. - СПб. Изд-во "Фолиант", 2007.- 256 с.
  11. Зубаиров Д.М. Роль микровезикул в гемостазе - новое направление в изучении патофизиологии гемостаза / Д.М. Зубаиров, Л.Д. Зубаирова // Вестник гематологии. - 2005. - №2. - С.15-20.
  12. Ключников С.О. Часто болеющие дети: лекции по педиатрии / С.О. Ключников., В.Б. Болдырев., Е.А. Кантимирова. - 2005. - Т. 5. - С. 250 - 267.
  13. Кузник Б.И. Современные представления о процессе свертывания крови, фибринолизе и действии естественных антикоагулянтов / Б.И. Кузник., З.С. Баркаган // Гематология и трансфузиология. - 1991. - №1. - С. 22-25.
  14. Кузник Б.И. Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма / Н.В. Васильев, Н.Н. Цыбиков. - М.: Медицина, 1989. - 320с.
  15. Кузник Б.И. Лейкоцитарно - тромбоцитарные взаимоотношения у детей, страдающих инфекционным эндокардитом / Б.И. Кузник, А.Б. Долина, Т.М. Вишнякова // Тромбоз гемостаз и реология. - 2008. - №3. - С. 31 - 38.
  16. Кузник Б.И. Общая гематология. Гематология детского возраста. / Б.И. Кузник, О.Г. Максимова. - Ростов н/Д.: Феникс, 2007. - 576с.
  17. Кузник Б.И. Взаимосвязь между иммуногенезом и системой гемостаза: единая защитная система организма/ Б.И. Кузник, Н.Н. Цыбиков // Успехи современной биологии. - 1981. - №2. - С. 243-260.
  18. Малевич Л.П. Клеточные рецепторы к активным факторам свертывания крови / Л.П. Малевич, Н.Н. Цыбиков // Бюлл. эксперим. биол. и мед. - 1983. - №12. - С. 7-9.
  19. Тихомирова И.А. Физиологическая роль и механизмы объединения эритроцитов в агрегаты / И.А. Тихомирова, А.В. Муравьев // Российский физиологический журнал. - 2007. - №12. - С.1382-1393.
  20. Hermans P., Yane P., Huet M et al. Red cell ICAM-4 a novel ligand for platelet-activated III $\beta$  3 integrin // J. Biol. Chem. - 2003/ - Vol/ 278, № 7 - P 4892 - 4898.
  21. Engelmann V.E., Luther T., Miller J. Intravascular tissue factor pathway - a model for rapid initiation of coagulation within the blood vessel // Thromb. Haemost. - 2003. - Vol. 89, №1. - P. 3 - 9.
  22. Sandset P. M., Abildgaard U. Tissue factor pathway inhibitor revisited // Thromb. Haemost. - 2004. - Vol.2, №12. - P. 2242 - 2243.
  23. Santucci R.A., Erlich J., Labriola J., et al. Measurement of Tissue Factor Activity in Whole Blood // Thrombosis and Haemostasis. - 2000. - Vol. 83. - P.445 - 454.