doi : 10.52485/19986173_2023_2_26
УДК 576.8.097.3

Богомягкова Е.Н., Солпов А.В., Терешков П.П., Витковский Ю.А.

СОДЕРЖАНИЕ РАСТВОРИМОЙ ФОРМЫ Р-СЕЛЕКТИНА, PSGL-1 И ТРОМБОЦИТАРНО-ЛЕЙКОЦИТАРНЫХ КОАГРЕГАТОВ У ЗДОРОВЫХ ДЕТЕЙ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России, 672000, г. Чита, ул. Горького, 39а

Цель исследования. *Изучить содержание молекулы межклеточной адгезии - sP-селектина, его лиганда sPSGL-1 и тромбоцитарно-лейкоцитарных коагрегатов в плазме крови у здоровых детей разного возраста.*
Материалы и методы. *Проведено исследование цельной крови 111 здоровых детей в возрасте от 7 месяцев до 14 лет. Периферическую кровь детей забирали в вакуумные пробирки с ЭДТА. Выявление тромбоцитарно-лейкоцитарных комплексов проводили общепринятым способом с помощью моноклональных антител (МкАт), конъюгированных с различными флуорохромами. Оценку содержания молекул межклеточной адгезии - sP-селектина и sPSGL-1 проводили методом мультиплексного анализа на проточном цитометре. Для сравнения всех 6 исследуемых групп по одному количественному признаку применялся критерий Краскела–Уоллиса (H). При наличии статистически значимых различий проводилось попарное сравнение с помощью критерия Манна-Уитни (U) с поправкой Бонферрони.*
Результаты. *Установлено, что с увеличением возраста детей содержание молекулы межклеточной адгезии sP-селектина постепенно снижалось. Максимальное содержание sP-селектина наблюдалось у детей до года, а затем постепенно уменьшалось вплоть до старшей возрастной группы (дети 12 лет и старше), и в результате наблюдалось его падение в 5,8 раза. Выявлено, что с увеличением возраста детей содержание sPSGL-1 не изменялось, колебание значений в разных возрастных группах составляло от 52,8 до 140,7pg/ml. Обнаружена достоверная корреляция между содержанием sP-селектина и содержанием PNeuC (тромбоцитарно-нейтрофильных коагрегатов), PLymC (тромбоцитарно-лимфоцитарных коагрегатов) в периферической крови здоровых детей разного возраста.*
Заключение. *Количество sP-селектина снижается с возрастом, а содержание sPSGL-1 остается неизменным. При этом наблюдается достоверная корреляция между содержанием sP-селектина и PNeuC, а также PLymC.*
Ключевые слова: *молекулы межклеточной адгезии, sPSGL-1, sP-селектин, тромбоцитарно-лейкоцитарные коагрегаты, здоровые дети.*

Bogomyagkova E.N., Solpov A.V., Tereshkov P.P., Vitkovsky Yu.A.

CONTENT OF SOLUBLE P-SELECTIN, PSGL-1 AND PLATELET-LEUKOCYTE COAGGREGATES IN HEALTHY CHILDREN OF DIFFERENT AGES

Chita State Medical Academy, 39a Gorky Street, Chita, 672000

Aim. *The study of the content of the intercellular adhesion molecule - sP-selectin, its ligand sPSGL-1, and platelet-leukocyte coaggregates in blood plasma in healthy children of different ages.*
Methods. *Whole blood was studied in 111 healthy children aged 7 months to 14 years. Peripheral blood of children was taken into vacuum tubes with EDTA. Detection of platelet-leukocyte complexes was carried out in a conventional way using monoclonal antibodies (Mab) conjugated with various fluorochromes. The content of intercellular adhesion molecules, sP-selectin and sPSGL-1, was assessed by multiplex analysis on a flow cytometer. The Kruskal–Wallis test (H) was used to compare all 6 study groups on the same quantitative basis. In the presence of statistically significant differences, a pairwise comparison was carried out using the Mann-Whitney test (U) with the Bonferroni correction.*
Results. *It was found that the content of the intercellular adhesion molecule sP-selectin gradually decreased. The maximum content of sP-selectin was observed in children under one year old, and then fell by 5.8 times in children of the older age group (children aged 12 years and older). It was found that the content of sPSGL-1 did not change. The fluctuation of values in different age groups ranged from 52.8 to 140.7 pg/ml. A significant correlation was found between the content of sP-selectin and the content of PNeuC (platelet-*

neutrophil coaggregates), PLymC (platelet-lymphocyte coaggregates) in the peripheral blood of healthy children of different ages.
Conclusions. *The amount of sP-selectin decreases with age, while the content of sPSGL-1 remains unchanged. At the same time, there is a significant correlation between the content of sP-selectin and PNeuC, as well as PLymC.*
Keywords: *intercellular adhesion molecules, sPSGL-1, sP-selectin, platelet-leukocyte coaggregates, healthy children.*

Известно, что к молекулам межклеточной адгезии относят группу гликопротеидов, которые выполняют роль рецепторов и располагаются на мембране клеток. Они способны связываться с лигандами на поверхности других клеток и инициировать течение различных процессов, происходящих в организме, например, воспаление и гемостаз [1]. Кроме этого, данные молекулы являются важными факторами, влияющими на развитие иммунного ответа [2]. Одним из представителей молекул межклеточной адгезии является семейство селектинов. Селектины экспрессируются на поверхности клеточной мембраны активированных лейкоцитов, эндотелиальных клеток и тромбоцитов, поэтому различают L-, E- и P-селектины. Белок межклеточной адгезии, P-селектин, в покоящихся тромбоцитах локализован в гранулах, а при их активации и высвобождении гранул появляется на поверхности мембраны [3].

Помимо мембранных форм, ассоциированных с клеточной поверхностью, молекулы межклеточной адгезии представлены растворимыми формами в плазме крови. Некоторые авторы описывают, что шеддинг (отрыв молекул с поверхности мембран) приводит к тому, что они попадают в кровоток и могут быть обнаружены в различных биологических жидкостях, благодаря чему в крови находят растворимую форму P-селектина и PSGL-1 [4,5,6].

В основе начального этапа процесса адгезии (роллинга) лейкоцитов к активированным эндотелиальным клеткам и тромбоцитам лежит взаимодействие P-селектин - PSGL-1. PSGL-1 – это трансмембранный белок лейкоцитов, который экспрессируется на нейтрофилах, моноцитах, лимфоцитах [7,8]. Взаимодействие P-селектина с PSGL-1 приводит к замедлению роллинга иммунных клеток, развитию более прочной адгезии лейкоцитов с клетками эндотелия и образованию тромбоцитарно-лейкоцитарных коагрегатов [9, 10].

Сведения о содержании растворимой формы межклеточной адгезии - sP-селектина и его лиганда sPSGL-1 в периферической крови у здоровых детей разного возраста единичны [27]. Также ограничены литературные данные об адгезионном тромбоцитарно-лейкоцитарном взаимодействии у здоровых детей. Так, описано увеличение относительного содержания PMonC (Platelet Monocyte Coaggregates) в крови здоровых 7-летних детей в сравнении с взрослыми [11].

Благодаря адгезионным контактным взаимодействиям с различными видами лейкоцитов (лимфоцитами, моноцитами, нейтрофилами) тромбоциты могут влиять на миграцию клеток крови, формирование иммунного ответа и тем самым участвовать в патогенезе многих заболеваний [12-15]. В многочисленных работах [16-21] описаны «мосты», участвующие в формировании лейкоцитарно-тромбоцитарных контактов с участием различных рецепторов и их лигандов в условиях кровотока. Показано, что в условиях кровотока контакты лимфоцитов и тромбоцитов обеспечивают молекулы CD40L (CD154), PSGL-1 (CD162) и β2-интегрины, контакты полиморфонуклеаров с тромбоцитами – P-селектины и β2-интегрины (CD11b/CD18) [16-21]. Однако, главную роль в образовании тромбоцитарно-лейкоцитарных коагрегатов играет пара – это P-селектин (CD62P) и его лиганд - PSGL-1 (CD162) [22]. Сравнительная оценка содержания sP-селектина и его лиганда sPSGL-1 с количеством тромбоцитарно-лейкоцитарных коагрегатов в крови здоровых детей разного возраста ранее не проводилась.

Цель исследования: изучить содержание растворимой молекулы sP-селектина, его лиганда sPSGL-1 и тромбоцитарно-лейкоцитарных коагрегатов в плазме крови у здоровых детей разного возраста.

Материал и методы. Исследование проводили согласно протоколу Конвенции Совета Европы о правах человека и биомедицине 1999 г. и Хельсинкской декларации ВМА 2000 г. Объектом исследования служили образцы венозной крови практически здоровых детей,

полученные путем пункции периферической вены и собранные в вакуумные пробирки с ЭДТА. Все исследования проводили в рамках диспансерной программы для своевременного выявления скрытых вариантов обменной патологии. Признаки воспалительной реакции в исследуемых группах детей по состоянию периферической крови (показатели общего анализа крови, содержание белков острой фазы воспаления) отсутствовали.

Обследовано 111 практически здоровых детей 1 и 2 групп здоровья в возрасте от 3 мес. до 14 лет. Все дети были разделены на 6 обследуемых групп, согласно практическому руководству «Иммунология детского возраста» Щербина А.Ю., Пашанов А.Д. 2006 год: 1-я группа – дети до 1 года, 2-я группа – от 1 года до 2 лет, 3-я группа – от 2 до 6 лет, 4-я группа – от 6 до 8 лет, 5-я группа – от 8 до 12, 6-я группа – дети старше 12 лет. Подготовку образцов периферической крови и настройку проточного цитофлуориметра проводили в соответствии с рекомендациями, изложенными С. В. Хайдуковым и соавт. [23].

Критерии включения в исследование: информированное добровольное согласие родителей детей на участие в исследовании; здоровые дети 1 и 2 групп здоровья в возрасте от 3 мес. до 14 лет, после осмотра врачом-педиатром, без клинических признаков и отсутствии в анамнезе аллергии, инфекционных, воспалительных и хронических заболеваний, не принимающие лекарственных средств во время исследования и в течение 2 нед. до проведения исследования; имеющие в периферической крови уровни белков острой фазы воспаления и ИЛ-6 не превышающие нормальных значений.

Критерии исключения из исследования: дети старше 14 лет; с инфекционными и воспалительными заболеваниями, с аллергическими заболеваниями в анамнезе; принимающие лекарственные средства. Также исключались дети 3, 4, 5 групп здоровья и дети, чьи родители (законные представители) отказались от участия в исследовании.

Исследование уровня (pg/ml) sP-selectin и sPSGL-1 в плазме крови проводили с помощью мультиплексного анализа на проточном цитофлуориметре с использованием наборов с частицами Human Thrombosis Panel (каталожный номер 740892) (Bio Legend, США) согласно инструкции фирмы-производителя. Регистрацию данных проводили на приборе CytoFlex LX (Beckman Coulter, США), анализ выполняли в программе Bio Legend's LEGENDplex™ data analysis software v8.0 (Bio Legend, США).

Выявление тромбоцитарно-лейкоцитарных комплексов проводили общепринятым способом с помощью моноклональных антител (МкАт), конъюгированных с различными флуорохромами [24]. Далее содержание лейкоцитарно-тромбоцитарных комплексов изучали среди нейтрофилов (Platelet Neutrophils Coaggregates, PNeuC), моноцитов (Platelet Monocyte Coaggregates, PMonC) и лимфоцитов (Platelet Lymphocyte Coaggregates, PLymC). Для выявления основных популяций лейкоцитов и тромбоцитарно-лейкоцитарных комплексов применялась панель моноклональных антител, конъюгированных с различными флуорохромами. Использовались следующие антитела производства Beckman Coulter, США: CD42a-FITC (клон SZ1, кат. № IM1757U), CD14-PE (клон RMO52, кат. № IM0650U), CD56-PE (клон N901 (NKH-1), кат. № IM2073U), CD19-ECD (клон J3-119, кат. № IM2708U), CD16-Pacific Blue (клон 3G8, кат. № A82792), CD45-Krome Orange (клон J.33, кат. № A96416); антитело производства Becton Dickinson, США: CD3-BUV661 (клон UCHT1, кат. № 612964). Удаление эритроцитов из образцов осуществляли при помощи коммерческого лизирующего раствора BD FACS™ Lysing Solution (кат. № 349202, Becton Dickinson, США). По завершении инкубации образцы однократно отмывали от несвязавшихся антител избытком забуференного фосфатами физиологического раствора (7 мин при 300 g), а полученный клеточный осадок ресуспендировали в 300 мкл забуференного фосфатами физиологического раствора, содержавшего 1 % нейтрального параформальдегида (кат. № HT5011, Sigma-Aldrich, США). Абсолютные значения были получены в одноплатформенной системе с помощью реагента Flow Count™ (Beckman Coulter, США). Анализ образцов проводили на проточном цитофлуориметре CytoFLEX LX (Beckman Coulter, США), оснащенном четырьмя диодными лазерами 355, 405, 488 и 561 нм. Обработку цитофлуориметрических данных проводили при

помощи программ CytExpert software v.2.0 и Kaluza™ v.2.1.1 (Beckman Coulter, США). В каждом образце анализировали не менее 50 000 лимфоцитов периферической крови (рис. 1).

Статистическая обработка. При проведении статистического анализа руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе» (SAMPL). Нормальность распределения признаков оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка. Учитывая негауссово распределение, количественные признаки представлены в виде медианы и 95 % доверительного интервала: Me [95 % доверительный интервал (ДИ)]. Для сравнения всех 6 обследуемых групп по одному количественному признаку применялся критерий Краскела-Уоллиса (H). При наличии статистически значимых различий проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна–Уитни (U) с поправкой Бонферрони. Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS StatisticsVersion 25.0 (International Business Machines Corporation, license No.Z125-3301-14, США).

Результаты. Обнаружено, что, начиная с младенческого возраста содержание sP-селектина постепенно снижалось. Обращает на себя внимание, что количество sP-селектина оказалось максимальным в 1-й исследуемой группе (дети до 1 года) и превышало в 5,8 раз аналогичный показатель у детей 12 лет и старше ($U = 0,00$; $p = 0,001$) (рис. 1). Подобные различия наблюдались между другими исследуемыми возрастными группами детей (табл. 1). Представленные данные указывают на то, что содержание sP-селектина в крови уменьшалось по мере взросления детей, и к пубертатному периоду его количество достигало минимальных значений.

Установлено, что с увеличением возраста детей содержание sPSGL-1 не изменялось ($p>0,05$), колебание значений в разных возрастных группах составляло от 52,8 до 140,7 pg/ml. (табл. 1).

Выявлено, что абсолютное содержание PNeuC было максимальным в 4-й исследуемой группе (дети от 6 до 8 лет), что превышало в 6 раз аналогичный показатель у детей до 1 года ($U=86,0$; $p=0,002$) (рис. 2). Однако относительное содержание PNeuC в периферической крови было минимальным у детей первого года жизни и постепенно возрастало к 12 годам ($U = 55,0$; $p = 0,006$) (рис. 3). Абсолютное содержание PMonC (тромбоцитарно-моноцитарных коагрегатов) оставалось неизменным во всех возрастных группах ($p>0,05$). При этом их относительное содержание к 8–12 годам увеличивалось в 1,5 раза по сравнению с детьми в возрасте до 1 года ($U = 62,0$; $p = 0,012$). Кривая относительного содержания PMonC волнообразно изменялась с возрастом, достигая пиков в 2–6 и 12 лет (рис. 4). Абсолютное и относительное содержание тромбоцитарно-лимфоцитарных коагрегатов (PLymC) постепенно снижалось с возрастом, достигая минимальных значений у детей 12 лет (рис. 2 и 3). Кривые возрастной динамики относительного и абсолютного содержания PNeuC и PLymC у здоровых детей характеризовались наличием физиологического перекреста в возрасте 2–6 лет (рис. 2 и 3) [25].

Ранее нами выявлена заметная обратная корреляционная связь между возрастом детей и показателями PLymC [26]. Обнаружено, что количество sP-селектина коррелирует с содержанием PNeuC (тромбоцитарно-нейтрофильных коагрегатов) и PLymC (тромбоцитарно-лимфоцитарных коагрегатов) в крови здоровых детей разного возраста (табл. 2, 3). Так между количеством sP-селектина и относительным содержанием PNeuC присутствует умеренная обратная корреляционная связь ($r = -0,385$; $p <0,001$) (табл. 2). При этом наблюдалась умеренная прямая корреляционная связь между относительным содержанием PLymC и содержанием sP-селектина ($r = 0,490$; $p <0,001$) (табл. 2). Обнаружена умеренная прямая связь между абсолютным количеством PLymC и содержанием sP-селектина ($r = 0,385$; $p <0,001$) (табл. 3). Между абсолютным количеством PNeuC и количеством sP-селектина наблюдалась слабая корреляционная связь ($r = -0,239$; $p <0,05$) (табл. 3). Корреляционная связь между содержанием PMonC и sP-селектином не выявлена.

Таблица 1

Содержание растворимого Р-селектина и PSGL-1 в крови здоровых детей разного возраста

Изучаемые субпопуляции	**Исследуемые группы детей**						**Сравни-ваемые группы**	**Статистическая значимость для сравниваемых групп**
	1-я Группа (0-1 года)	2-я группа (1-2 года)	3-я группа (2-6 лет)	4-я группа (6-8 лет)	5-я группа (8-12 лет)	6-я группа (12-17 лет)		
	n = 22	*n* = 20	*n* = 22	*n* = 18	*n* = 17	*n* = 12		
sP-sel, pg/ml	496,95 (403,92-665,22)	324,6 (226,61-556,05)	332,3 (296,56-515,53)	249,75 (178,79-376,49)	221,81 (163,42-333,39)	86,07 (68,41-184)	гр.1/гр.4	U=37 p=0,003
							гр.1/гр.5	U=28 p=0,001
							гр.1/гр.6	U=0,0 p=0,001
							гр.2/гр.5	U=25 p=0,038
							гр.2/гр.6	U=5 p=0,002
							гр.3/гр.5	U=86 p=0,029
							гр.3/гр.6	U=22 p=0,001
							гр.4/гр.5	U=39 p=0,013
							гр.5/гр.6	U=51 p=0,037
sPSGL-1, pg/ml	114,45 (89,12-187,39)	52,8 (6,5-175,52)	140,7 (106,31-190,75)	124,2 (84,43-150,39)	80,35 (61,46-156,08)	133,29 (77,54-175,71)	-	H=4,69 p=0,455

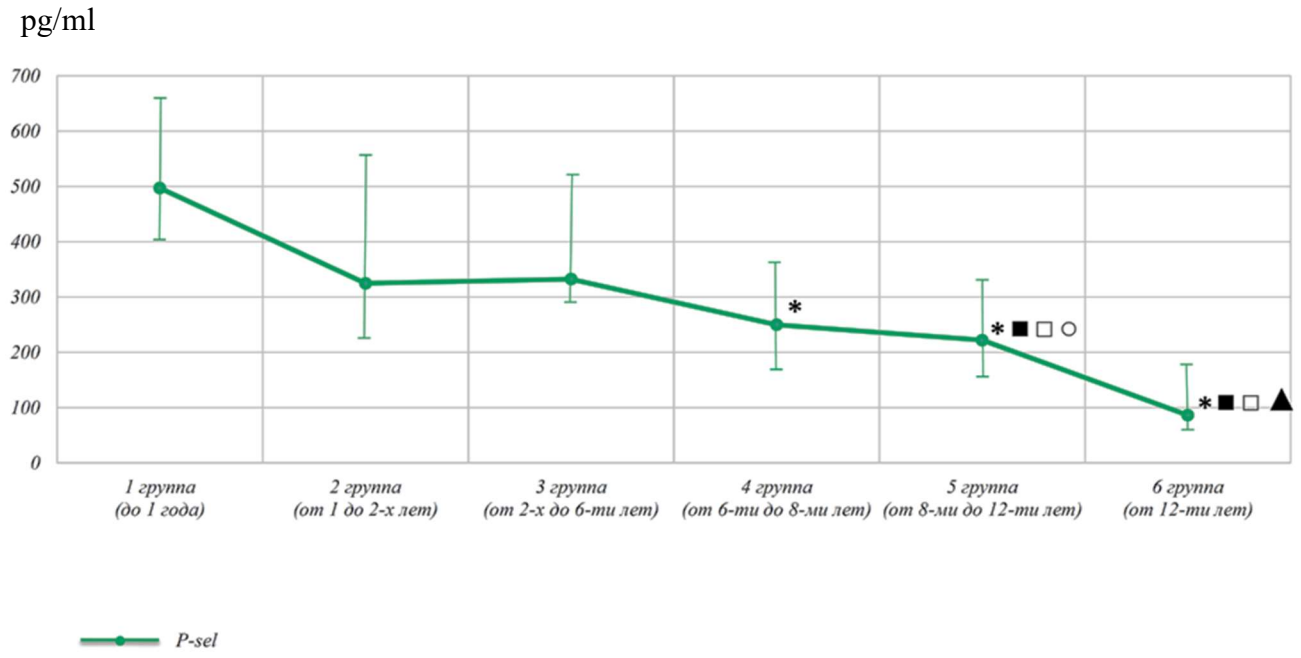

Рис. 1. Содержание растворимого Р-селектина и PSGL-1 в крови здоровых детей разного возраста.

Примечание. * – значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении с 1-й группой; □ – значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении со 2-й группой; ■ – значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении с 3-й группой; ○ – значимые различия (p < 0,05) рассматриваемой группы в сравнении с 4-й группой.

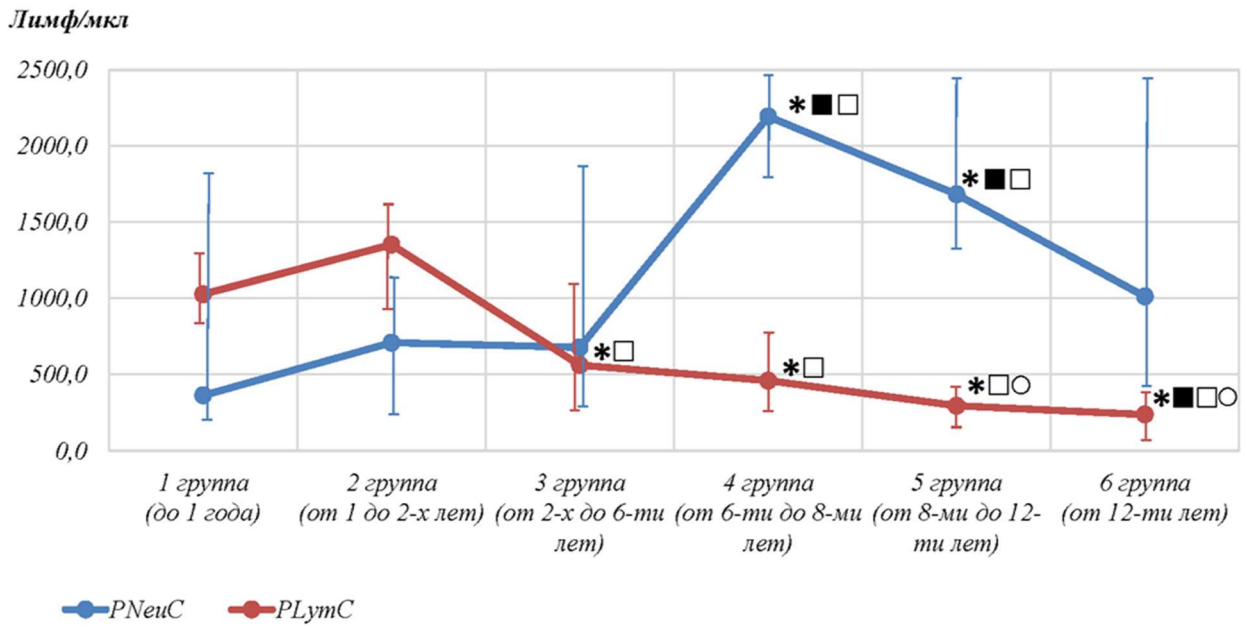

Рис. 2. Абсолютное содержание PNeuC и PLymC у детей различного возраста.
Примечание. * – значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении с 1-й группой; □ – значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении со 2-й группой; ■–значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении с 3-й группой; ○–значимые различия (p < 0,05) рассматриваемой группы в сравнении с 4-й группой.

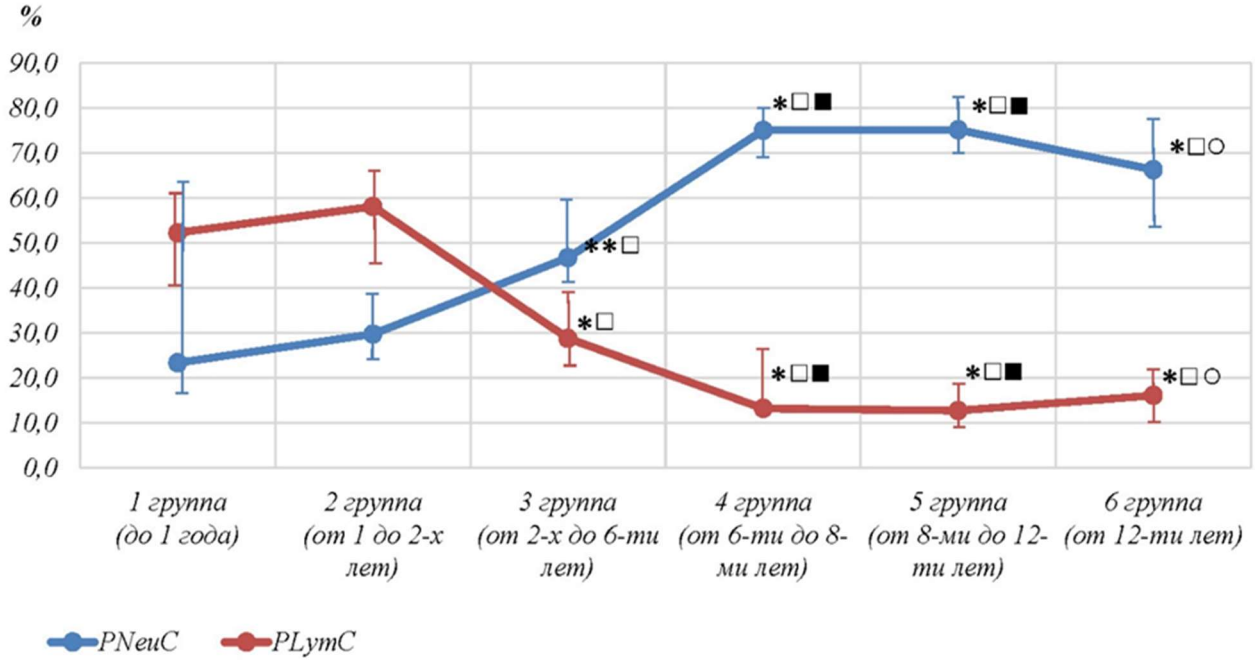

Рис. 3. Относительное содержание PNeuC и PLymC у детей
(относительно общего пула лейкоцитов).
Примечание: * – значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении с 1-й группой; **– значимые различия (p < 0,05) рассматриваемой группы в сравнении с 1-й группой; □ – значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении со 2-й группой; ■–значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении с 3-ей группой; ○ – значимые различия (p < 0,05) рассматриваемой группы в сравнении с 3-ей группой.

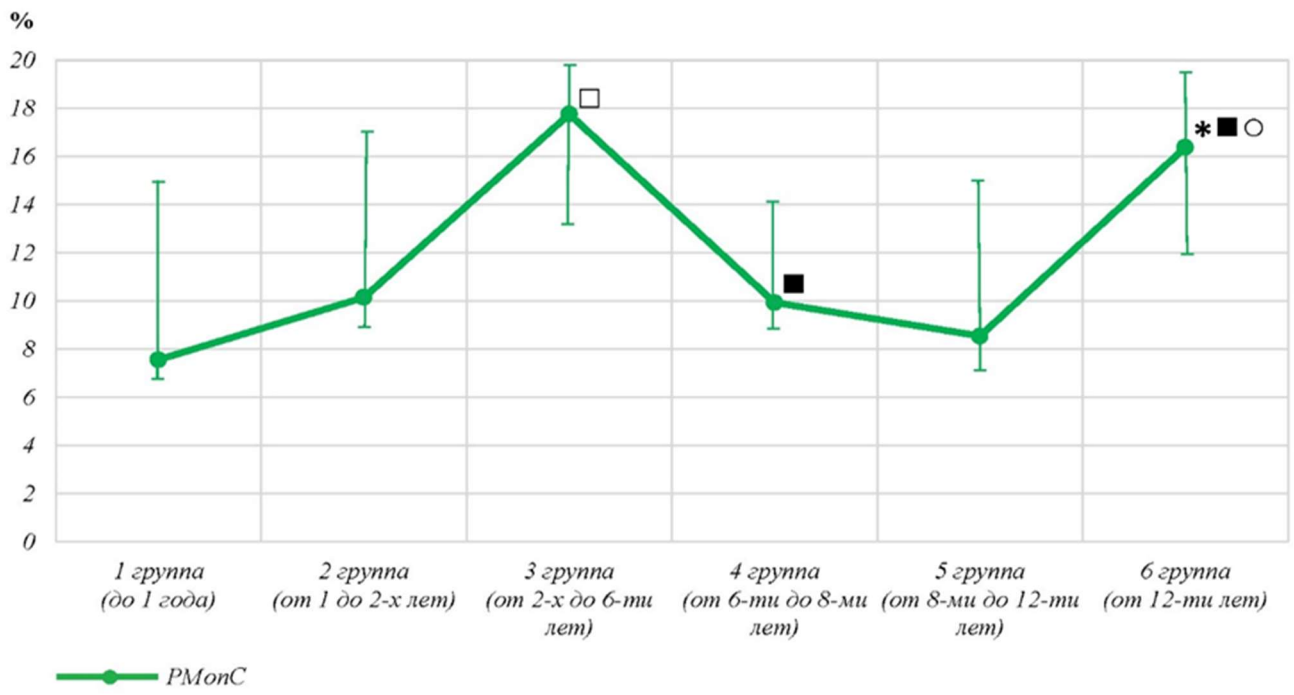

Рис. 4. Относительное содержание PMonC (относительно общего пула лейкоцитов).
Примечание: * – значимые различия (p < 0,01) рассматриваемой группы в сравнении с 1-й группой; □ – значимые различия (p < 0,05) рассматриваемой группы в сравнении с 1-й группой; ■–значимые различия (p < 0,05) рассматриваемой группы в сравнении с 3-й группой; ○–значимые различия (p < 0,05) рассматриваемой группы в сравнении с 4-йгруппой.

Таблица 2

Фактическая степень параллелизма между относительным содержанием PLymC, PNeuC, PMonC и количеством sP-selectina в крови детей разного возраста

Параметр	Коэффициент корреляции Спирмена	Статистическая значимость	Сила связи по шкале Чеддока
PLymC	0,490	$p < 0,001$	Умеренная прямая
PNeuC	-0,385	$p < 0,001$	Умеренная обратная
PMonC	-0,018	$p = 0,871$	Слабая обратная

Таблица 3

Фактическая степень параллелизма между абсолютным содержанием PLymC, PNeuC, PMonC и количеством sP-selectina в крови детей разного возраста

Параметр	Коэффициент корреляции Спирмена	Статистическая значимость	Сила связи по шкале Чеддока
PLymC	0,490	$p = 0,871$	Умеренная прямая
PNeuC	-0,385	$p = 0,001$	Умеренная обратная
PMonC	-0,018	$p = 0,871$	Слабая обратная

Обсуждение. Нами обнаружено, что содержание sP-селектина с возрастом у здоровых детей снижается. Подобные результаты были получены Rens Zonneveld и соавт., которые показали, что содержание sP-селектина у здоровых детей в возрасте от 2 до 16 лет ниже, чем у новорожденных и взрослых. Авторами установлено, что максимальное содержание sP-селектина наблюдалось у детей младших возрастных групп, а затем с возрастом отмечалось постепенное снижение содержания sP-селектина [27]. При выяснении причины этого снижения закономерно возникает вопрос, какие клетки – тромбоциты или эндотелий являются основным источником этой молекулы у детей? В научной литературе данные о содержании sP-селектина в периферической крови здоровых детей довольно скудные. В основном в работах рассматриваются содержание этой адгезивной молекулы у взрослых лиц [28]. По

результатам исследования Семенова А.В. и соавт. было установлено, что концентрация sP-селектина в плазме крови коррелирует с количеством тромбоцитов у здоровых взрослых, это указывает на то, что тромбоциты служат одним из основных источников sP-селектина [29]. Что же касается детского возраста, еще не до конца выяснено, в каком возрасте у детей, тромбоциты становятся функционально зрелыми. Известно, что в первые месяцы жизни у детей количество тромбоцитов максимальное и постепенно снижается с возрастом [30]. Вероятно, что именно снижение числа кровяных пластинок может быть причиной выявленного нами уменьшения концентрации sP-селектина у детей.

Что касается функционального созревания эндотелия у детей результаты исследований разных авторов схожи. Так, Михно В.А. и соавт. в 2012 г. изучали содержание десквамированных эндотелиоцитов и некоторых маркеров активации эндотелия. Обнаружено, что с возрастом у здоровых детей не наблюдалось изменения функциональной активности эндотелия [31]. Другие авторы также выявили, что физиологическое состояние эндотелиоцитов у детей с возрастом не изменяется, и продукция им биологически активных соединений остается примерно на одинаковом уровне [32]. Таким образом, напрашивается вывод, что основной причиной выявленного нами снижения количества sP-селектина у детей является изменение функционального состояния числа тромбоцитов, но не эндотелия сосудов.

В нашей работе выявлено, что с увеличением возраста детей содержание sPSGL-1 не изменялось. Известно, что основным источником растворимой формы PSGL-1 в плазме служит эндотелий и лейкоциты [28]. Так как у детей функциональная активность эндотелия практически не изменяется с возрастом, то и продукция, и экспрессия адгезивных молекул также может быть на постоянном уровне. Мы предполагаем, что по этой причине разница в содержании sPSGL-1 не показала значимых результатов у детей разных возрастных групп.

Кроме того, установлена достоверная корреляция между количеством sP-селектина и содержанием PLymC в крови здоровых детей разного возраста. Нашими предыдущими исследованиями установлено, что содержание PLymC с возрастом снижается и между их количеством и возрастом детей обнаружена обратная корреляция [26]. Также в работе Solpov A. et al. обнаружено, что ключевое значение в тромбоцитарно-лимфоцитарной адгезии играет взаимодействие P-селектина с PSGL1. Выявлено, что ингибирование этого адгезионного моста специфическими антителами против PSGL1 приводит к снижению степени межклеточных контактов практически на 30 %, а совместная блокировка с CD40L на 52% [16]. Таким образом, результаты исследования, проведенные ранее *in vitro*, подтверждают обнаруженную достоверную корреляцию между уменьшением содержания sP-селектина и содержанием PLymC в крови у детей.

Между количеством sP-селектина и относительным содержанием PNeuC обнаружена умеренная обратная корреляционная связь. В предыдущих исследованиях нами установлено, что по мере взросления ребенка количество нейтрофилов возрастало. Относительное содержание нейтрофилов в периферической крови минимальное у детей первого года жизни и возрастает в 2,5 раза у детей к 12 годам ($p < 0,05$). Абсолютное содержание нейтрофилов так же растет. У детей 12 лет количество нейтрофилов выше в 1,7 раз ($p < 0,05$) по сравнению с детьми до года [25]. Количество нейтрофильно-тромбоцитарных коагрегатов также достоверно увеличивалось по мере роста детей. Мы считаем, что именно за счет количественного увеличения нейтрофилов и коагрегатов у детей с возрастом между содержанием sP-селектина и относительным содержанием PNeuC выявляется умеренная обратная корреляционная связь. Ключевое значение здесь несет именно содержание клеток, а не степень экспрессии адгезионных молекул, и sP-селектина включительно. Кроме того, известно, что нейтрофилы с тромбоцитами могут взаимодействовать и через другие мосты, например, через MAC-1, которые тоже могут вносить свой вклад в изменение количества коагрегатов, что требует дальнейшего исследования [33].

Количество моноцитарно-тромбоцитарных агрегатов (в наших исследованиях) носило волнообразный характер при сравнении разных возрастных групп [25]. Поэтому корреляционной связи с содержанием sP-селектином выявлено не было.

Также ранее Yip C. и соавт. показали, что относительное содержание моноцитарно-тромбоцитарных коагрегатов в общей циркуляции увеличено у детей в сравнении со взрослыми, но при этом не наблюдалось повышенной экспрессии Р-селектина. Причину роста степени адгезионного взаимодействия моноцитов и тромбоцитов авторы объясняют возможным участием других молекул адгезии: Mac-1, LFA-1 и ICAM-2 [11].

Выводы.

1. Содержание sP-селектина по мере увеличения возраста постепенно снижалось и достигало минимальных значений в старшей возрастной группе, а количество sPSGL-1 оставалось неизменным.
2. Кривые возрастной динамики относительного и абсолютного содержания PNeuC и PLymC у здоровых детей характеризовались наличием физиологического перекреста в возрасте 2-6 лет, при этом абсолютное содержание PMonC оставалось неизменным.
3. Количество sP-селектина коррелирует с содержанием PNeuC и PLymC в крови здоровых детей разного возраста.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Исследование не имело финансовой поддержки.

Вклад авторов:

Богомягкова Е.Н. – 50% (разработка концепции и дизайна исследования, работа с документацией, анализ и интерпретация данных, анализ литературы по теме исследования, написание текста статьи, научное редактирование).

Солпов А.В. – 30% (разработка концепции и дизайна исследования, анализ интерпретация данных, научное редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Терешков П.П. – 10% (сбор данных, анализ и интерпретация данных, техническое редактирование).

Витковский Ю.А. – 10% (техническое редактирование, научное редактирование, утверждение окончательного текста статьи).

Список литературы:

1. Harjunpää H., Llort Asens M., Guenther C., Fagerholm S.C. Cell Adhesion Molecules and Their Roles and Regulation in the Immune and Tumor Microenvironment. Front Immunol. 2019. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01078.
2. Гилязова Г.И., Мухорамова И.С., Руденко Ю.А., Корой П.В. Роль молекул адгезии в иммунном ответе. Вестник молодого ученого. 2012 (2). 21–27.
3. Kappelmayer J, Nagy B Jr. The interaction of selectins and PSGL-1 as a key component in thrombus formation and cancer progression. Hindawi BioMed Res Int. 2017. 6138145. DOI: 10.1155/2017/6138145.
4. Кубышева Н.И., Постникова Л.Б., Соодаева С.К., Новиков В.В., Шумилова С.В., Касатова Е.С., Елисеева Т.И., Игнатов С.К., Ли Т.В., Батыршин И.З. Значение растворимых молекул клеточной адгезии, метаболитов оксида азота, эндотелина-1 и их ассоциаций как маркеров прогрессирования воспаления при ХОБЛ. Современные технологии в медицине. 2017. 9 (2). 105-117.
5. Москалец О.В. Молекулы клеточной адгезии ICAM-1 и VCAM-1 при инфекционной патологии. Тихоокеанский медицинский журнал. 2018. 2. 21-25. https://doi.org/ 10.17238/PmJ1609-1175.2018.2.21-25.
6. Ларева Н.В., Горбеева О.О. Место молекул клеточной адгезии в патогенезе хронической обструктивной болезни легких и артериальной гипертензии в гендерном аспекте. Забайкальский медицинский вестник. 2018. 1. 87-97. DOI 10.52485/19986173_2018_1_87. – EDN YVPBTI.
7. Zarbock A., Müller H., Kuwano Y., Ley K. PSGL-1-dependent myeloid leukocyte activation. J Leukoc Biol. 2009. 86. 1119–24. https://doi.org/10.1189/jlb.0209117.

8. Tinoco R., Otero D.C., Takahashi A., Bradley L.M. PSGL-1: a new player in the immune checkpoint landscape. Trends Immunol. 2017. 38 323–35. https://doi.org/10.1016/j.it. 2017.02.002.
9. Abadier M., Ley K. P-selectin glycoprotein ligand-1 in T cells. Curr Opin Hematol. 2017. 24. 265-73. https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000331.
10. Kappelmayer J., Nagy B. The interaction of selectins and PSGL-1 as a key component in thrombus formation and cancer progression. BioMed Res Int. 2017. e6138145. https://doi.org/10.1155/2017/6138145.
11. Yip C., Ignjatovic V., Attard C., Monagle P., Linden M.D. First report of elevated monocyte-platelet aggregates in healthy children. PLoS One. 201.3 8(6). e67416. DOI: https://www.doi.org/10.1371/journal.pone.0067416.
12. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования. Иммунология. 1999. 4. 35-37.
13. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. Медицинская иммунология 2006. 8 (5-6). 745-753.
14. Rossaint J., Margraf A., Zarbock A. Role of Platelets in Leukocyte Recruitment and Resolution of Inflammation. Front Immunol. 2018. 9. 2712. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02712.
15. Hottz E.D., Azevedo-Quintanilha I.G., Palhinha L., Teixeira L., Barreto E.A., Pão C.R.R., Righy C., Franco S., Souza T.M.L., Kurtz P., Bozza F.A., Bozza P.T. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19. Blood. 2020. 136(11). 1330-1341. DOI: 10.1182/blood.2020007252.
16. Solpov A., Shenkman B., Vitkovsky Y., Brill G., Koltakov A., Farzam N., Varon D., Bank I., SavionN. Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: role of platelet aggregation, integrins, and non-integrin receptors. Thromb Haemost. 2006. 95 (5). 815-21.
17. Кузник Б.И., Витковский Ю.А., Солпов А.В. Адгезивные молекулы и лейкоцитарно–тромбоцитарные взаимодействия. Вестник гематологии. 2006. 2 (2). 42-55.
18. Shenkman B., Brill G., Solpov A., Vitkovsky Y., Kuznik B., Koltakov A., Kotev-Emeth S., Savion N., Bank I. CD4+ lymphocytes require platelets for adhesion to immobilized fibronectin in flow: role of beta(1) (CD29)-, beta(2) (CD18)-related integrin's and non-integrin receptors. Cell Immunol. 2006. 242 (1). 52-9. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2006.09.005.
19. Солпова О.А., Аветисян М.А., Терешков П.П., Солпов А.В., Витковский Ю.А. Участие TCRαβ- и γδ-Т-лимфоцитов, Р-селектинав формировании клеточно-тромбоцитарных коагрегатов. Забайкальский медицинский вестник. 2016. 2. 71-79.
20. Zucoloto A.Z., Jenne C.N. Platelet-Neutrophil Interplay: Insights Into Neutrophil Extracellular Trap (NET)-Driven Coagulation in Infection. Front Cardiovasc Med. 2019.6 85. DOI: 10.3389/fcvm.2019.00085.
21. Pircher J., Engelmann B., Massberg S., Schulz C. Platelet-Neutrophil Crosstalk in Atherothrombosis. Thromb Haemost. 2019. 119(8). 1274-1282. DOI: 10.1055/s-0039-1692983.
22. Павлов О.В., Чепанов С.В., Селютин А.В., Сельков С.А. Тромбоцитарно-лейкоцитарные взаимодействия: иммунорегуляторная роль и патофизиологическое значение. Медицинская иммунология. 2022. 24 (5). 871-888. https://doi.org/10.15789/1563-0625-PLI-2511.
23. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлюориметров-анализаторов» (ПРОЕКТ). Медицинская иммунология. 2012. 14 (3). 255-268.
24. Finsterbusch M., Schrottmaier W.C., Kral-Pointner J.B., Salzmann M., Assinger A. Measuring and interpreting platelet-leukocyte aggregates. Platelets. 2018. 29 (7). 677-685. DOI: https://www.doi.org/:10.1080/09537104.2018.1430358.
25. Богомягкова Е.Н., Солпов А.В., Терешков П.П., Трушина Н.Г., Витковский Ю.А. Содержание тромбоцитарно-лейкоцитарных коагрегатов в периферической крови у

здоровых детей. Иммунология. 2022. 43 (6). 702–713. DOI: https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-6-702-713.
26. Богомягкова Е.Н., Солпов А.В., Витковский Ю.А., Терешков П.П. Содержание коагрегатов тромбоцитов с αβ-, γδ-Т-лимфоцитами и их некоторыми минорными субпопуляциями в крови у здоровых детей. Иммунология. 2022. 43 (1). 78-88. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-6-78-88.
27. Zonneveld R., Martinelli R., Shapiro N.I. et al. Soluble adhesion molecules as markers for sepsis and the potential pathophysiological discrepancy in neonates, children and adults. Crit Care. 2014. 18. 204. https://doi.org/10.1186/cc13733.
28. Burnie J., Persaud A.T., Thaya L. et al. P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1/CD162) is incorporated into clinical HIV-1 isolates and can mediate virus capture and subsequent transfer to permissive cells. Retrovirology. 202). 19. 9 https://doi.org/10.1186/s12977-022-00593-5.
29. Семенов А.В., Романов Ю.А., Локтионова С.А., Тихомиров О.Ю., Хачикян М.В., Васильев С.А., Мазуров А.В. Продукция растворимого Р-селектина тромбоцитами и эндотелиальными клетками. Биохимия. 1999. 64(11). 1570-1582.
30. Ponomarenko E.A., Ignatova A.A., Polokhov D.M., Khismatullina R.D., Kurilo D.S., Shcherbina A., Zharkov P.A., Maschan A.A., Novichkova G.A., Panteleev M.A. Healthy pediatric platelets are moderately hyporeactive in comparison with adults' platelets. Platelets. 2022. 33(5). 727-734. DOI: 10.1080/09537104.2021.1981848.
31. Михно В.А., Богомолова И.К. Исследование показателей функции эндотелия у здоровых детей. Сибирское медицинское обозрение. 2012. 1. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-pokazateley-funktsii-endoteliya-u-zdorovyh-detey (дата обращения: 23.04.2023).
32. Obeid J, Nguyen T, Walker RG, Gillis LJ, Timmons BW. Circulating endothelial cells in children: role of fitness, activity, and adiposity. Med Sci Sports Exerc. 2014. 46(10). 1974-80. DOI: 10.1249/MSS.0000000000000313.
33. Lisman T. Platelet-neutrophil interactions as drivers of inflammatory and thrombotic disease. Cell Tissue Res. 2018. 371(3). 567-576. doi: 10.1007/s00441-017-2727-4.

References:

1. Harjunpää H., Llort Asens M., Guenther C., Fagerholm S.C. Cell Adhesion Molecules and Their Roles and Regulation in the Immune and Tumor Microenvironment. Front Immunol. 2019. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01078.
2. Gilyazova G.I., Mukhoramova I.S., Rudenko Yu.A., Koroy P.V. The role of adhesion molecules in the immune response. Bulletin of a young scientist. 2012. 2. 21-27. in Russian.
3. Kappelmayer J., Nagy B.Jr. The interaction of selectins and PSGL-1 as a key component in thrombus formation and cancer progression. Hindawi BioMed Res Int. 2017. 6138145. DOI: 10.1155/2017/6138145.
4. Kubysheva N.I., Postnikova L.B., Soodaeva S.K., Novikov V.V., Shumilova S.V., Kasatova E.S., Eliseeva T.I., Ignatov S.K., Li T.V., Batyrshin I.Z. Significance of soluble cell adhesion molecules, nitric oxide metabolites, endothelin-1 and their associations as markers of inflammation progression in COPD. Modern technologies in medicine. 2017. 9(2). 105-117. in Russian.
5. Moskalets O.V. Cell adhesion molecules ICAM-1 and VCAM-1 in infectious pathology. Pacific Medical Journal. 2018. 2. 21-25. https://doi.org/10.17238/PmJ1609-1175.2018.2.21-25. in Russian.
6. Lareva N.V., Gordeeva O.O. Place of cell adhesion molecules in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease and arterial hypertension in a gender aspect. Transbaikal Medical Bulletin. 2018. 1. 87-97. DOI 10.52485/19986173_2018_1_87. – EDN YVPBTI. in Russian.
7. Zarbock A.., Müller H., Kuwano Y, Ley K. PSGL-1-dependent myeloid leukocyte activation. J Leukoc Biol. 2009. 86. 1119-24. https://doi.org/10.1189/jlb.0209117.

8. Tinoco R., Otero D.C., Takahashi A., Bradley L.M. PSGL-1: a new player in the immune checkpoint landscape. Trends Immunol. 2017. 38. 323-35. https://doi.org/10.1016/j.it.2017.02.002.
9. Abadier M., Ley K. P-selectin glycoprotein ligand-1 in T cells. Curr Opin Hematol. 2017. 24. 265-73. https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000331.
10. Kappelmayer J., Nagy B. The interaction of selectins and PSGL-1 as a key component in thrombus formation and cancer progression. BioMed Res Int. 2017. e6138145. https://doi.org/10.1155/2017/6138145.
11. Yip C., Ignjatovic V., Attard C., Monagle P., Linden M.D. First report of elevated monocyte-platelet aggregates in healthy children. PLoS One. 2013. 8(6). e67416. DOI: https://www.doi.org/10.1371/journal.pone.0067416.
12. Vitkovsky Yu.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. Phenomenon of lymphocytic-platelet rosette formation. Immunology. 1999. 4. 35-37. in Russian.
13. Vitkovsky Yu.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. Pathogenetic significance of lymphocytic-platelet adhesion. Medical Immunology 2006. 8(5-6). 745-753. in Russian.
14. Rossaint J., Margraf A., Zarbock A. Role of Platelets in Leukocyte Recruitment and Resolution of Inflammation. Front Immunol. 2018. 9. 2712. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02712.
15. Hottz E.D., Azevedo-Quintanilha I.G., Palhinha L., Teixeira L., Barreto E.A., Pão C.R.R., Righy C., Franco S., Souza T.M.L., Kurtz P., Bozza F.A., Bozza P.T. Platelet activation and platelet-monocyte aggregate formation trigger tissue factor expression in patients with severe COVID-19. Blood. 2020. 136(11). 1330-1341. DOI: 10.1182/blood.2020007252.
16. Solpov A., Shenkman B., Vitkovsky Y., Brill G., Koltakov A., Farzam N., Varon D., Bank I., SavionN. Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: role of platelet aggregation, integrins, and non-integrin receptors. Thromb Haemost. 2006. 95 (5). 815-21.
17. Kuznik B.I., Vitkovsky Yu.A., Solpov A.V. Adhesive molecules and leukocyte-platelet interactions. Bulletin of hematology. 2006. 2(2). 42-55. in Russian.
18. Shenkman B., Brill G., Solpov A., Vitkovsky Y., Kuznik B., Koltakov A., Kotev-Emeth S., Savion N., Bank I. CD4+ lymphocytes require platelets for adhesion to immobilized fibronectin in flow: role of beta(1) (CD29)-, beta(2) (CD18)-related integrin's and non-integrin receptors. Cell Immunol. 2006. 242 (1). 52-9. DOI: https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2006.09.005.
19. Solpova O.A., Avetisyan M.A., Tereshkov P.P., Solpov A.V., Vitkovsky Yu.A. Participation of TCRαβ- and γδ-T-lymphocytes, P-selectin in the formation of cell-platelet coaggregates. Transbaikal Medical Bulletin. 2016. (2). 71–9. in Russian.
20. Zucoloto A.Z., Jenne C.N. Platelet-Neutrophil Interplay: Insights Into Neutrophil Extracellular Trap (NET)-Driven Coagulation in Infection. Front Cardiovasc Med. 2019.6 85. DOI: 10.3389/fcvm.2019.00085.
21. Pircher J., Engelmann B., Massberg S., Schulz C. Platelet-Neutrophil Crosstalk in Atherothrombosis. Thromb Haemost. 2019. 119(8). 1274-1282. DOI: 10.1055/s-0039-1692983.
22. Pavlov O.V., Chepanov S.V., Selyutin A.V., Selkov S.A. Platelet-leukocyte interactions: immunoregulatory role and pathophysiological significance. Medical immunology. 2022; 24(5):871-888. https://doi.org/10.15789/1563-0625-PLI-2511. in Russian.
23. Khaidukov S.V., Baidun L.A., Zurochka A.V., Totolyan A.A. Standardized technology "study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytofluorometer-analyzers" (PROJECT). Medical immunology. 2012. 14(3). 255-268. in Russian.
24. Finsterbusch M., Schrottmaier W.C., Kral-Pointner J.B., Salzmann M., Assinger A. Measuring and interpreting platelet-leukocyte aggregates. Platelets. 2018. 29(7). 677-685. DOI: https://www.doi.org/:10.1080/09537104.2018.1430358.
25. Bogomyagkova E.N., Solpov A.V., Tereshkov P. P., and Vitkovsky Yu.A. The content of platelet-leukocyte coaggregates in peripheral blood in healthy children. Immunology. 2022. 43(6). 702-713. DOI: https://doi.org/10.33029/0206-4952-2022-43-6-702-713. in Russian.

26. Bogomyagkova E.N., Solpov A.V., Vitkovsky Yu.A., Tereshkov P.P. The content of coaggregates of platelets with αβ-, γδ-T-lymphocytes and some of their minor subpopulations in the blood of healthy children. Immunology. 2022. 43(1). 78-88. DOI: 10.33029/0206-4952-2021-42-6-78-88.
27. Zonneveld, R., Martinelli, R., Shapiro, N.I. et al. Soluble adhesion molecules as markers for sepsis and the potential pathophysiological discrepancy in neonates, children and adults. Crit Care 18. 204 (2014). https://doi.org/10.1186/cc13733.
28. Burnie J., Persaud A.T., Thaya L. et al. P-selectin glycoprotein ligand-1 (PSGL-1/CD162) is incorporated into clinical HIV-1 isolates and can mediate virus capture and subsequent transfer to permissive cells. Retrovirology. 2022. 19. 9. https://doi.org/10.1186/s12977-022-00593-5.
29. Semenov A.V., Romanov Yu.A., Loktionova S.A., Tikhomirov O.Yu., Khachikyan M.V., Vasiliev S.A., Mazurov A.V. Production of soluble P-selectin by platelets and endothelial cells. Biochemistry. 1999. 64(11). 1570 - 1582. in Russian.
30. Ponomarenko E.A., Ignatova A.A., Polokhov D.M., Khismatullina R.D., Kurilo D.S., Shcherbina A., Zharkov P.A., Maschan A.A., Novichkova G.A., Panteleev M.A. Healthy pediatric platelets are moderately hyporeactive in comparison with adults' platelets. Platelets. 2022. 33(5). 727-734. DOI: 10.1080/09537104.2021.1981848.
31. A Mikhno V., Bogomolova I. K. Study of endothelial function in healthy children. Siberian Medical Review. 2012. 1. URL: https://cyberleninka.ru/article/n/issledovanie-pokazateley-funktsii-endoteliya-u-zdorovyh-detey (date of access: 04/23/2023). in Russian.
32. Obeid J., Nguyen T., Walker R.G., Gillis L.J., Timmons B.W. Circulating endothelial cells in children: role of fitness, activity, and adiposity. Med Sci Sports Exerc. 2014. 46(10).1974-80. DOI: 10.1249/MSS.0000000000000313.
33. Lisman T. Platelet-neutrophil interactions as drivers of inflammatory and thrombotic disease. Cell Tissue Res. 2018. 371(3). 567-576. doi: 10.1007/s00441-017-2727-4.