

18. Sulowicz W., Ignacak E., Kuzniewski M. et al. Cytomegalovirus infection in kidney transplant patients: clinical manifestations and diagnosis // Zbl. Bakteriол. 1998. V.4. P.489-500.
19. Tipirneni R., Daly K.R., Jarlsberg L.G. et al. Healthcare Worker Occupation and Immune Response to Pneumocystis jirovecii // Emerg. Infect. Dis. 2009. V.15, No.10. P.1590-1597.
20. Valgaris S.L., Ponce C.A., Gigliotti F. et al. Transmission of Pneumocystis carinii DNA from a patient with P. carinii pneumonia to immunocompetent contact health care workers // J. Clin. Microbiol. 2000. V.38, No.4. P.1563-1538.
21. Wagner H.J., Wessel M., Jabs W. Patients at risk for development of posttransplant lymphoproliferative disorder: plasma versus peripheral blood mononuclear cells as material for quantification of Epstein-Barr viral load by using real-time quantitative polymerase chain reaction // Transplantation. 2001. No.6. P.1012-1019.
22. Walzer P.D., Evans H.E., Copas A.J. et al. Early predictors of mortality from Pneumocystis jirovecii pneumonia in HIV-infected patients: 1985-2006 // Clin. Infect. Dis. 2008. V.46, No.4. P.625-633.

АГРЕГАЦИЯ ТРОМБОЦИТОВ И ЛИМФОЦИТАРНО-ТРОМБОЦИТАРНАЯ АДГЕЗИЯ ПРИ ЭЛЕКТРОТРАВМЕ

А.В. Любин, Н.И. Перепелицын, К.Г. Шаповалов

ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия

У 20 пациентов с электротравмой исследованы агрегационная способность тромбоцитов и показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. Установлено, что при электротравме у пострадавших повышался показатель лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии, наблюдалась вторичная гипоагрегация тромбоцитов. Таким образом, воздействие электрического тока вызывало изменения в системе микроциркуляторного гемостаза и функции эндотелия больных с электротравмой.

Ключевые слова: электротравма, агрегация тромбоцитов, лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия.

AGGREGATION OF THROMBOCYTES AND LYMPHOCYTE-PLATELET ADHESION IN ELECTROTRAUMA

A.V. Lyubin, N.I. Perepelitsyn, K.G. Shapovalov

Chita State Medical Academy

In experimental conditions, the aggregative ability of thrombocytes and an indicator of lymphocyte-platelet adhesion of patients after electrotrauma were studied. It is established that the indicator of lymphocyte-platelet adhesion of the injured under experiment raised after electrotrauma, and repeated hypo aggregation of thrombocytes was observed. Thus, electric current influence caused changes in the system of microcirculatory haemostasis and in the function of endothelium of patients with electrotrauma.

Keywords: an electrotrauma, aggregation of thrombocytes, lymphocyte-platelet adhesion.

ВВЕДЕНИЕ

Электрический ток, входя в тело человека, движется в направлении от одного полюса к другому, распространяясь веерообразно, главным образом по тканям, оказывающим наименьшее сопротивление. Ткани человеческого организма обладают различным сопротивлением к электрическому току (по степени возрастания: нерв – кровеносный сосуд – мышца – кожа – сухожилие – подкожная жировая клетчатка

– кость) [13, 15]. Иначе говоря, электрический ток, преодолев сопротивление кожи и подкожной жировой клетчатки, проходит через более глубоко лежащие ткани параллельными пучками вдоль потоков тканевой жидкости, кровеносных и лимфатических сосудов, оболочек нервных стволов [8, 11, 12, 13]. Это обуславливает высокую степень уязвимости кровеносных сосудов при электрической травме [9, 12]. Сообразно с этим проявляются нарушения сосудисто-тромбоци-

тарного гемостаза, свертывания крови и фибринолиза, ведущие к ДВС-синдрому, нарушениям микроциркуляции, эндотелиальной дисфункции.

Особый интерес представляет изучение феномена лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) [3]. Этот показатель является интегральным и одновременно отражает изменения в системах гемостаза и иммунитета. Известно, что тромбоциты содержат ряд биологически активных веществ, в том числе цитокины, серотонин, АДФ и прочие [2, 4, 7, 10]. Предыдущими работами, проведенными на кафедре нормальной физиологии Читинской государственной медицинской академии, изучены механизмы ЛТА в условиях нормы и патологии [2, 3, 4, 5]. Установлена взаимосвязь между ЛТА и другими параметрами иммунитета. Особую актуальность это научное направление имеет в области электротравмы, поскольку данная патология всегда протекает с нарушениями в реологии крови и с патологическими сдвигами гемостаза. Однако подобных исследований функции лимфоцитарно-пластиночного взаимодействия при электротравме не проводилось. Изучение феномена ЛТА и показателей агрегационной активности тромбоцитов позволит более глубоко раскрыть особенности патогенеза электротравмы.

Настоящая работа посвящена изучению агрегационной способности тромбоцитов и интенсивности ЛТА у пострадавших с электротравмой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 20 больных с поражением электрическим током в первые и третьи сутки после полученной травмы. В работе с людьми соблюдались этические принципы, предъявляемые статьей 24 Конституции РФ и Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, ред. 2000). Пациенты находились на стационарном лечении в Центре термической травмы городской клинической больницы №1 г. Читы в период с 2009 по 2011 г.

В исследование были включены пострадавшие мужчины от 20 до 40 лет. Средний возраст составил 33 ± 6 лет. Из исследования исключались пациенты с тяжелой соматической патологией (сахарный диабет, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, облитерирующий атеросклероз сосудов нижних конечностей, туберкулез, хронический алкоголизм), а также пострадавшие, электротравма у которых осложнилась пневмонией, лимфаденитом или сепсисом. У больных имелись метки тока в области верхних конечностей, при этом общая площадь ожогового поражения не превышала 5%. Контрольную группу составили 20 практически здоровых мужчин, сопоставимых по возрасту с обследованными больными.

Изучение агрегационной способности тромбоцитов проводилось по следующей методике. Обогащенную тромбоцитами плазму получали из крови, взятой с использованием в качестве антикоагулянта 3,8% раствора цитрата натрия в соотношении крови и антикоагулянта 9:1. Кровь центрифугировали при 1500 g в течение 7 минут при комнатной температуре. Из пробирки осторожно отбирали 2,5 мл супернатанта (верхнего слоя). Бедную тромбоцитами плазму получали повторным центрифугированием остатков крови при 3000 g в течение 15 минут. Агрегацию тромбоцитов исследовали турбидиметрическим методом по G. Born (1962) с помощью лазерного анализатора агрегации Biola (НПФ «Биола», Москва). В качестве индуктора агрегации использовали раствор АДФ в концентрации 2,5 мкг/мл, выпускаемый ООО «Технология-стандарт» (Барнаул). Оценивали степень и скорость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов по данным кривой среднего размера агрегатов и кривой светопропускания.

Определение показателя ЛТА проводили по методу, предложенному Ю.А. Витковским и соавт. [4]. Свежую гепаринизированную кровь экспериментальных животных насаивали на градиент фиколл-урографин (плотность 1,077 г/мл) и выделяли лимфоциты. Собирали интерфазное кольцо, содержащее клетки и кровяные пластинки, однократно промывали фосфатно-солевым буфером (рН=7,4) и центрифугировали при 1000 об/мин в течение 3-4 минут. Надосадочную жидкость сливали, осадок микроскопировали в камере Горяева. Подсчитывали число лимфоцитарно-тромбоцитарных коагgregатов на 100 клеток. Степень агрегации определяли как число кровяных пластинок, адгезированных на поверхности одного лимфоцита. Изучение феномена ЛТА позволяет глубже вникнуть в механизмы миграции клеток, развития иммунных реакций, воспаления, патологии гемостаза и др. [3, 4], что представляет научный интерес при исследовании электротравмы.

Полученные данные обработаны с помощью пакета программ Biostat и Microsoft Excel 2003. При сравнении показателей исследуемых групп использовались методы непараметрической статистики в связи с ненормальным распределением значений в вариационных рядах. Числовые данные представлены в виде медианы и интерквартильного интервала с указанием точного значения статистической значимости (p). При сравнении двух независимых выборочных совокупностей по одному признаку использовался критерий Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При альтерации любого генеза наблюдается усиление межклеточных взаимодействий, цель которых – ограничение очага повреждения, запуск саногенных и репаративных процессов.

У всех пострадавших с поражением электрическим током отмечалось повышение адгезивной способности кровяных пластинок к лимфоцитам (табл. 1). Установлено, что у больных в первые сутки с момента травмы процент ЛТА был выше, чем у здоровых людей, в 2,3 ($p<0,001$), а степень адгезии – в 2 раза ($p<0,001$). На третьи сутки после электроудара ЛТА превышала показатели здоровых людей в 1,5 ($p<0,001$), лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс – в 1,3 раза ($p<0,001$). При анализе крови пострадавших в динамике установлено снижение ЛТА в 1,5 раза ($p_1<0,001$), а степени адгезии – в 1,6 ($p_1<0,001$).

Значительное повышение ЛТА при электротравме можно объяснить тем, что патогенез острого повреждения тканей и сосудистой стенки характеризуется нарушением целостности эндотелия и, как следствие, снижением экспрессии большинства молекул адгезии; в результате в зоне альтерации страдает кооперация и миграция клеток [2, 3]. Этим, очевидно, объясняется повышение способности клеток и пластинок образовывать агрегаты.

Показатели спонтанной агрегации тромбоцитов у больных с электротравмой не отличались от контрольных значений.

В связи с техническими трудностями получения агрегатограмм у данной группы пациентов исчерпывающее исследование агрегационной функции тромбоцитов проведено у 15 больных. При исследовании АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, по данным кривой среднего размера агрегатов, в первые сутки у пострадавших с электротравмой наблюдается снижение максимального значения агрегации тромбоцитов в 1,6 ($p<0,001$; АДФ в концентрации 10 мкг/мл) и в 1,5 раза (АДФ 2,5 мкг/мл) по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Установлено уменьшение наклона кривой агрегации в 1,4 раза при индукции раствором АДФ в концентрации 10 мкг/мл ($p<0,001$) и в 1,5 – при индукции раствором АДФ 2,5 мкг/мл ($p<0,001$).

Подобные изменения выявлялись по результатам кривой светопропускания. Так, у пострадавших показатель максимального значения агрегации оказался ниже на 15% по сравнению с группой контроля ($p<0,001$; индуктор – АДФ 10 мкг/мл), а скорость агрегации – на 30% ($p<0,001$; АДФ 2,5 мкг/мл).

Таблица 1

Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у пострадавших с электротравмой (по критерию Манна–Уитни). Медиана (25-й, 75-й процентиля)

Показатели	Контроль (n=20)	Больные с электротравмой (n=20)	
		1-е сутки	3-и сутки
ЛТА, %	14,1 (13,5; 14,7)	32,3 (28,8; 35,2) $p<0,001$	21,9 (18,0; 26,8) $p<0,001$; $p_1<0,001$
Степень адгезии	2,55 (2,33; 2,88)	5,50 (4,93; 5,95) $p<0,001$	3,35 (2,80; 3,70) $p<0,001$; $p_1<0,001$

p – достоверность показателей относительно контрольной группы;

p_1 – достоверность показателей относительно 1-х суток с момента травмы.

Таблица 2

Агрегационная функция тромбоцитов у пострадавших с электротравмой в первые сутки (по критерию Манна–Уитни). Медиана (25-й, 75-й процентиля)

Обследованные	Спонтанная агрегация		АДФ в концентрации 10 мкг/мл		АДФ в концентрации 2,5 мкг/мл	
	макс. знач.	макс. накл.	макс. знач.	макс. накл.	макс. знач.	макс. накл.
Кривая среднего размера агрегатов						
Контроль (n=15)	1,1 (0,93; 1,2)	0,5 (0,4; 0,6)	8,9 (8,7; 9,1)	27,80 (26,90; 28,38)	9,25 (9,00; 9,80)	28,6 (26,6; 29,7)
Электротравма (n=15)	1,0 (0,9; 1,18)	0,4 (0,4; 0,6)	5,5 (5,1; 5,8) $p<0,001$	19,35 (18,63; 20,23) $p<0,001$	6,25 (5,83; 6,55) $p<0,001$	19,5 (18,4; 20,4) $p<0,001$
Кривая светопропускания						
Контроль (n=15)	0,30 (0,23; 0,38)	1,25 (1,0; 1,38)	52,0 (47,9; 54,3)	81,0 (78,7; 84,5)	39,4 (33,7; 44,6)	54,7 (48,2; 58,5)
Электротравма (n=15)	0,25 (0,13; 0,30) $p=0,078$	1,55 (1,43; 1,85) $p=0,001$	45,4 (43,4; 46,8) $p<0,001$	74,8 (73,4; 77,7) $p<0,001$	27,8 (26,4; 29,3) $p<0,001$	50,7 (47,7; 52,8) $p=0,089$

p – достоверность показателей относительно контрольной группы.

У пораженных на третьи сутки с момента получения травмы, по данным кривой среднего размера агрегатов, в сравнении с контролем установлено снижение максимального значения агрегации тромбоцитов в 1,3 ($p < 0,001$; АДФ в концентрации 10 мкг/мл) и в 1,2 раза ($p < 0,001$; АДФ в концентрации 2,5 мкг/мл). Наблюдалось уменьшение наклона кривой агрегации в 1,1 раза ($p < 0,001$; АДФ в концентрации 10 мкг/мл) и в 1,2 – при индукции раствором АДФ 2,5 мкг/мл ($p < 0,001$).

Ранее было показано, что благодаря тромбоцитам лимфоциты способны контактировать с субэндотелиальным матриксом посредством интегринов [2, 7]. Адгезивная способность тромбоцитов и лимфоцитов зависит от функциональных свойств этих форменных элементов. Активация агрегационных свойств кровяных пластинок сопровождается усилением ЛТА [3]. По нашему мнению, увеличение числа лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов при одновременном снижении АДФ-индуцированной агрегации является признаком именно вторичной гипоагрегации тромбоцитов, обусловленной их первичной гиперфункцией в сосудистом русле. Поэтому исследование показателей ЛТА и сосудисто-тромбоцитарного гемостаза позволяет объективно оценить состояние микроциркуляции.

Резкое повышение ЛТА после полученной электротравмы является важным адаптационным механизмом, обеспечивающим реализацию клеточных защитных реакций. По всей видимости, электроток, поражая сосудистый эндотелий, приводит к увеличению концентрации провоспалительных цитокинов, снижению секреции оксида азота и экспрессии тканевого фактора. Проходящее электричество индуцирует воспалительную реакцию и гибель клеток сосудистой стенки и окружающих тканей. В результате активируются механизмы саногенеза, иммунной защиты, гемостаза для ограничения зоны альтерации и элиминации продуктов некроза.

Выводы

1. Выявлено, что в первые сутки после электротравмы у пораженных по сравнению с контрольной группой в 1,5 раза снижается максимальное значение агрегации и уменьшается наклон ее кривой, а скорость агрегации замедляется на 30% (АДФ 2,5 мкг/мл).

2. Установлено, что у больных с электротравмой происходит усиление ЛТА в 2,3 раза, а степени адгезии – в 2 раза по сравнению с контрольной группой.

3. В динамике у больных наблюдается тенденция к нормализации агрегационной функции тромбоцитов и ЛТА.

ЛИТЕРАТУРА

1. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Взаимодействие лейкоцитов и тромбоцитов с эндотелием и ДВС-синдром // Тромбоз, гемост. и реол. 2006. №1. С.15-28.
2. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Итоги 10-летнего исследования механизмов лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии // Забайкал. мед. вестн. 2008. №3. С.30-35.
3. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии // Мед. иммунол. 2006. №8. С.745-752.
4. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования // Иммунология. 1999. №4. С.35-37.
5. Дамулин И.В. и др. Спинальная амиотрофия вследствие электротравмы // Неврол. журн. 2006. №1. С.36-40.
6. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. Чита, 2010. 554 с.
7. Руцкина Е.А. и др. Агрегация тромбоцитов и активность фактора фон Виллебранда у больных с острым отравлением уксусной кислотой // Забайкал. мед. вестн. 2007. №1. С.4-8.
8. Струкова С.М. Роль тромбоцитов и сериновых протеиназ в сопряжении свертывания крови и воспаления // Биохимия. 2004. Вып.10. С.1314-1331.
9. Томилин В.В., Пашинян Г.А. Руководство по судебной медицине. М.: Медицина, 2001. 576 с.
10. Черешнев В.А., Юшков Б.Г. Патопфизиология. М.: Вече, 2001. 693 с.
11. Шаповалов К.Г. и др. Изменения агрегационных свойств тромбоцитов у больных с местной холодовой травмой // Дальневост. мед. журн. 2007. №4. С.32-34.
12. Danielson J., Capelli M., Lee R.C. Electrical Injury of the Upper Extremity // Hand Clinics. 2000. V.16. P.225-234.
13. Koumbourlis A.C. Electrical injuries // Crit. Care Med. 2002. V.30, Suppl. 11. P.424-430.
14. Lee R.C., Dougherty W. Electrical injury: Mechanisms, manifestations, and therapy // IEEE Trans. Dielectrics and Electrical Insulation. 2003. V.10. P.810-819.
15. Spies C., Trohman R.G. Narrative review: Electrocution and life-threatening electrical injuries // Ann. Intern. Med. 2006. V.145. P.531-537.