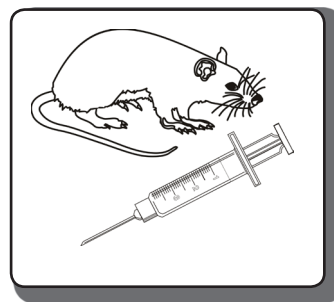


Теоретическая и экспериментальная медицина



УДК 616.1+616.15

В.А. Добрых¹, Л.А. Овчинникова², Т.К. Тен¹, И.В. Уварова¹, И.В. Онищенко¹

ОСОБЫЙ ТИП КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ОТНОШЕНИЙ ГРАНУЛОЦИТОВ И ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С КРИТИЧЕСКИМИ СОСТОЯНИЯМИ

¹Дальневосточный государственный медицинский университет, 680000,
ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²301-й военный клинический госпиталь, 680028,
ул. Серышева, 1, тел. 8-(4212)-39-77-23, г. Хабаровск

Резюме

Проведена оценка конфигураций точечных диаграмм (*scatter plot*) парных отношений числа разных видов лейкоцитов периферической крови у пациентов многопрофильного госпиталя. При критических состояниях (4 867 цитогрaмм) была выявлена особая конфигурация точек соотношения числа гранулоцитов и лимфоцитов, напоминающая фигуру слона. При уровне гранулоцитоза менее $17 \times 10^9/\text{л}$ число лимфоцитов варьировало, образуя скопление точек овальной формы «тело и голова», а при гранулоцитозе в диапазоне $18-35 \times 10^9/\text{л}$ число лимфоцитов было фиксировано в узких пределах $1-2 \times 10^9/\text{л}$, – «хобот». Подобная конфигурация соотношения этих клеток была отмечена и в группе больных с острыми инфекциями желудочно-кишечного тракта. При всех других парных сопоставлениях числа гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов в разных группах пациентов конфигурация точек имела обычный вид рассеянного корреляционного поля (10 044 цитогрaммы). Выраженную инвариантность числа лимфоцитов при высоком гранулоцитозе у пациентов с критическими состояниями с позиций синергетики можно расценить как пример формирования в хаотической системе новой самоорганизующейся структуры.

Ключевые слова: лимфоциты, гранулоциты, критические состояния.

V.A. Dobrikh¹, L.A. Ovchinnikova², T.K. Ten¹, I.V. Uvarova¹, I.V. Onishchenko¹

A SPECIFIC TYPE OF QUALITATIVE RELATIONS BETWEEN GRANULOCYTES AND LYMPHOCYTES IN THE PERIPHERAL BLOOD IN CRITICALLY ILL PATIENTS

¹Far Eastern State Medical University;

²301 Military hospital, Khabarovsk

Resume

We assessed scatter plot diagrams of paired relations of different types of leukocytes in the peripheral blood of patient hospitalized in a multiprofile hospital. In critical conditions (4 867 cytograms) we revealed a specific configuration of correlation dots of granulocytes and lymphocytes resembling an elephant figure. If the granulocytes level was less than $17 \times 10^9/\text{l}$ the amount of lymphocytes ranges forming an oval cluster «body and head», if granulocytes vary as $18-35 \times 10^9/\text{l}$ the amount of lymphocytes was registered in an narrow frame $1-2 \times 10^9/\text{l}$, – «hose». This configuration of cells relation was detected in the patients with acute infections of the gastrointestinal tract. In other paired correlations of granulocytes, lymphocytes and monocytes in different group of patients, the configuration had a common type of a diffuse correlation field. (10 044 cytograms). From the synergistic point of view, a marked variability of lymphocytes amount in high granulocytosis in critically ill patients can be considered as an example of a new self-organized structure formation in a chaotic system

Key words: lymphocytes, granulocytes, critical conditions.

Выделение иммунного дистресс-синдрома как особого фактора, влияющего на течение и исход критических состояний, открыло дополнительную перспективу оптимизации лечения пациентов с экстремальными состояниями. В последние годы проблема иммунологии критических состояний приобретает выраженный прагматический характер [7, 10, 12].

Известно, что инволюция лимфоидной ткани, угнетение реакций клеточного иммунитета и последующее развитие сепсиса являются частыми спутниками многих критических состояний, в том числе, тяжелых травм и хирургических вмешательств [11].

Существующая тесная кооперация лейкоцитов (гранулоцитов, лимфоцитов, моноцитов) в иммунном ответе и в процессе воспалительной реакции подразумевает комбинированный характер нарушений иммунитета, развивающихся при критических состояниях [9, 13].

Клеточный состав периферической крови, как известно, является важным биосубстратом, широко используемым для нозологической и синдромной диагностики ряда патологических состояний, в том числе, и для оценки клеточного иммунитета [3].

Количественные параметры цитологического состава крови традиционно оцениваются как путем подсчета абсолютного и относительного содержания отдельных видов клеток в единице объема, так и путем расчета величин (индексов) отношения между отдельными клетками (лейкоцитарный индекс интоксикации, индекс ядерного сдвига и др.). Показатели межклеточных отношений лейкоцитов периферической крови точнее отражают отдельные стороны нарушений иммунитета, чем их абсолютные значения [1, 3, 4, 7, 8].

Целью проведенного нами исследования стало сравнительное изучение парных количественных отношений клеток лейкограммы периферической крови у пациентов с критическими состояниями.

Материалы и методы

Материалом исследования послужили показатели лейкоцитарного состава образцов периферической крови, взятой у пациентов ряда отделений 301-го Военного клинического госпиталя г. Хабаровска в 2005–2012 годах.

Методом сплошной выборки для сравнительного анализа было сформировано несколько клинических групп пациентов с заведомо разной тяжестью патологических состояний и выраженностью системной воспалительной реакции (СВР).

В основную группу мы включили пациентов реанимационного отделения, находившихся по определению в критическом состоянии, с признаками выраженных поражений жизненно важных органов и частым присутствием СВР тяжелого течения (травмы, операции, инфекции, отравления и др. (4 867 лейкограмм).

В 1-ю группу сравнения включили практически здоровых военнослужащих, проходивших плановое медицинское обследование (16 отделение – 2 554 лейкограммы).

Во 2-ю группу сравнения были включены находящиеся в удовлетворительном состоянии пациенты кожного и глазного отделений, с преобладанием у них, как правило, местных патологических процессов и минимальными проявлениями СВР – 1 571 лейкограмма.

В 3-ю группу сравнения вошли пациенты пульмонологического и двух инфекционных отделений, у которых были диагностированы либо внебольничная пневмония (7 отделение, 1 844 лейкограммы), либо острые инфекционные заболевания верхних дыхательных путей (17 отделение, 2 563 лейкограммы), либо острые инфекции желудочно-кишечного тракта (26 отделение, 1 512 лейкограмм). У пациентов этой группы усредненная общая тяжесть заболеваний и СВР (лихорадка, интоксикация), в целом, были заведомо выше, чем во 2-й группе, и мы расценили обобщенную СВР в этой группе как умеренно выраженную.

Использованный методологический подход, на наш взгляд, был оправдан с учетом строго профильного распределения пациентов по отделениям госпиталя и большим объемом сделанных выборок, что включало в действие «закон больших чисел» [2].

Подсчет и дифференцирование клеток крови осуществлялись в процессе текущей работы в клинической лаборатории 301-го ВКГ на автоматическом гематологическом анализаторе Advia-70 и, частично, при ручном досмотре квалифицированными лаборантами. Парные соотношения между абсолютными значениями гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов оценивались путем анализа коэффициентов корреляции и диаграмм рассеяния (точечных диаграмм), отражавших конкретные особенности парных межклеточных связей [2, 6].

Различия показателей в сравниваемых группах оценивались с помощью методов Манна-Уитни и Фишера, их связи – путем расчета коэффициентов линейной корреляции по Пирсону с использованием ресурсов программы Microsoft Office Excel 2003 [2].

Результаты и обсуждение

Величины парных корреляционных отношений содержания каждого вида лейкоцитов с учетом влияния факторов, ассоциированных с общей тяжестью заболеваний и выраженностью СВР, представлены в таблице.

Коэффициенты парной линейной корреляции содержания лейкоцитов в у пациентов с разной выраженностью усредненной СВР

Группы обследованных	Гранулоциты-лимфоциты	Гранулоциты-моноциты	Лимфоциты-моноциты
1-я группа сравнения (отсутствие СВР)	0,05	0,21	0,25
2-я группа сравнения (слабая СВР)	0,11	0,29	0,27
3-я группа сравнения (умеренная СВР)	0,09	0,16	0,17
Основная группа (выраженная СВР)	-0,11	0,31	0,35

Примечание. Полу жирным шрифтом обозначены статистически достоверные корреляционные связи ($p < 0,05$).

Представленные в таблице данные указывают на общую для всех групп закономерность не резко выраженной положительной связи содержания гранулоцитов и моноцитов, а также лимфоцитов и моноцитов. В то же время корреляционная связь числа гранулоцитов и лимфоцитов во всех группах практически отсутствовала. Таким образом, направление и сила парных

межклеточных корреляционных связей при критических состояниях, в целом, сохраняли инвариантность (симметричность) относительно изменений, ассоциированных с тяжестью течения заболеваний и выраженностью СВР.

Парные соотношения показателей абсолютного содержания гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов (корреляционное поле) мы представили в каждой группе с помощью известного метода диаграммы рассеяния (точечной диаграммы) [2, 6]. Расположение точек на диаграммах (корреляционное поле) в группах сравнения с отсутствием СВР и при ее слабой и умеренной выраженности для каждой сопоставляемой пары показателей имело разную степень рассеяния в виде облаковидной формы овальной (при наличии связи), либо близкой к округлой конфигурации – при отсутствии связи [2, 6].

В то же время, при анализе особенностей распределений соотношений количества клеток у пациентов основной группы на большом материале (около 5 000 гемоцитогрaмм) мы обнаружили совершенно особый вид взаимного соотношения числа гранулоцитов и лимфоцитов (рис. 1). На представленной диаграмме видно, что при количестве гранулоцитов, находящемся в интервале $18-30 \times 10^9/\text{л}$ абсолютное содержание лимфоцитов не выходит за пределы весьма узкого диапазона значений ($1-2 \times 10^9/\text{л}$). При числе гранулоцитов, превышающем $30 \times 10^9/\text{л}$ фиксированность этих значений уменьшается, хотя общая тенденция резкого снижения вариабельности числа лимфоцитов продолжает сохраняться. Таким образом, расположение точек на диаграмме приобретает некую «слоноподобную» конфигурацию с вытянутым «хоботом» фиксированных значений содержания лимфоцитов. Статистический анализ с высокой вероятностью исключил случайность отмеченной фиксированности содержания лимфоцитов в этой группе при высоком гранулоцитозе ($p < 0,0001$).

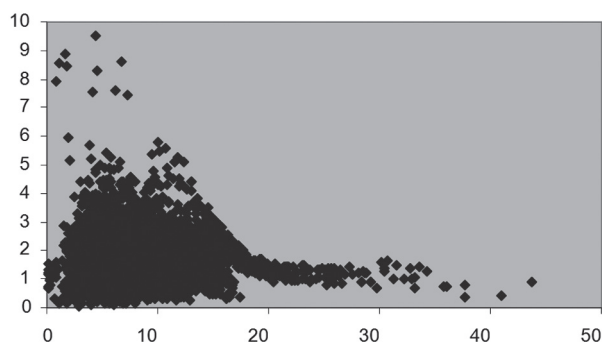


Рис. 1. Соотношение гранулоцитов и лимфоцитов периферической крови у пациентов с критическими состояниями ($n=4867$). Число клеток выражено в единицах $\times 10^9/\text{л}$

Следует отметить, что соотношение других клеток лейкограммы в группе пациентов с критическими состояниями имело, в общем, вид обычного корреляционного поля с небольшой положительной связью сравниваемых показателей (рис. 2, 3). Как видно на рисунке 2 пул показателей обладает значительной вариативностью, в том числе и при содержании гранулоцитов, превышающем $18 \times 10^9/\text{л}$, а его конфигурация имеет обычный вид корреляционного поля совершенно отличный от распределения отношений гранулоци-

тов и лимфоцитов. На рисунке 3 видно, что распределение величин соотношения лимфоцитов и моноцитов в данной группе пациентов приближается к обычному «облаковидному» корреляционному полю и не обладает той упорядоченностью, которая отмечена для соотношения гранулоцитов и лимфоцитов.

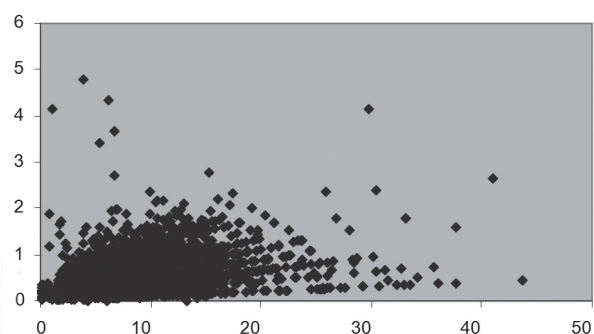


Рис. 2. Соотношение числа гранулоцитов и моноцитов в группе пациентов с критическими состояниями ($n=4867$). Число клеток выражено в единицах $\times 10^9/\text{л}$

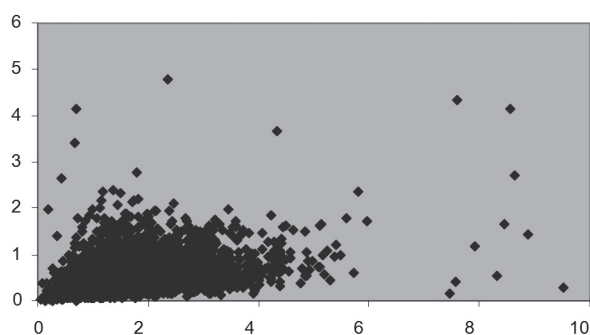


Рис. 3. Соотношение числа лимфоцитов и моноцитов у больных с критическими состояниями ($n=4867$). Число клеток выражено в единицах $\times 10^9/\text{л}$

Таким образом, как показывают наши данные, у пациентов в критическом состоянии при наличии значительного гранулоцитоза, превышающего $18 \times 10^9/\text{л}$, в периферической крови формируется фиксированная в узком диапазоне концентрация лимфоцитов, практически инвариантная к дальнейшему нарастанию уровня гранулоцитов, т. е. приобретающая признаки высокой симметричности по отношению к динамике роста этого показателя. При этом общая диаграмма рассеяния вместо обычной облаковидной конфигурации приобретает очертания, напоминающие фигуру слона, характерными особенностями которой являются: 1) облаковидное скопление точек до значений гранулоцитоза $15-17 \times 10^9/\text{л}$ («тело и голова слона»); 2) жестко фиксированные в диапазоне $1-2 \times 10^9/\text{л}$ значения уровня лимфоцитов при гранулоцитозе $18-35 \times 10^9/\text{л}$ («хобот слона»).

Следует отметить, что в группе пациентов с умеренно выраженной СВР (7, 17, 26 отделения) при высоком гранулоцитозе соотношение лимфоцитов и гранулоцитов различалось в соответствии с нозологическими особенностями патологических состояний. Так, у пациентов 26-го отделения (острые инфекции желудочно-кишечного тракта) имела место отмеченная выше тенденция расположения лимфоцитов в ограниченном диапазоне нормальных значений. Как следует из приведенных на рисунке 4 данных при нарастании грану-

лоцитоза выше $18 \times 10^9/\text{л}$ концентрация лимфоцитов практически не менялась, сохраняя инвариантность по отношению к изменению его уровня.

В то же время у пациентов с острыми респираторными инфекциями (7-е и 17-е отделения) выявленная закономерность практически отсутствовала. Представленные на рисунке 5 результаты показывают отсутствие жесткой фиксации уровня лимфоцитов при высоком гранулоцитозе. Аналогичный вид рассеянного распределения лимфоцитов при гранулоцитозе, превышающем $18 \times 10^9/\text{л}$, был выявлен и у пациентов 17-го отделения.

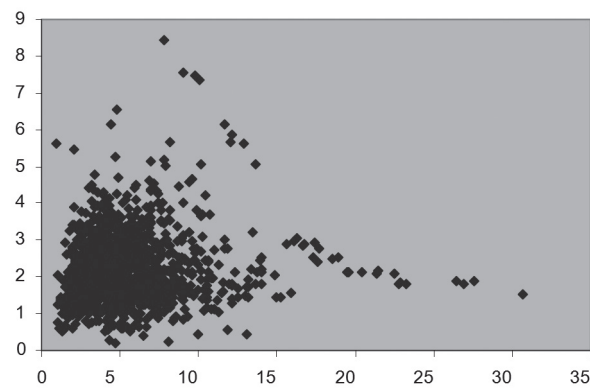


Рис. 4. Соотношение гранулоцитов и лимфоцитов при умеренной СВР (пациенты 26-го отделения (n=1 506)). Число клеток выражено в единицах $\times 10^9/\text{л}$

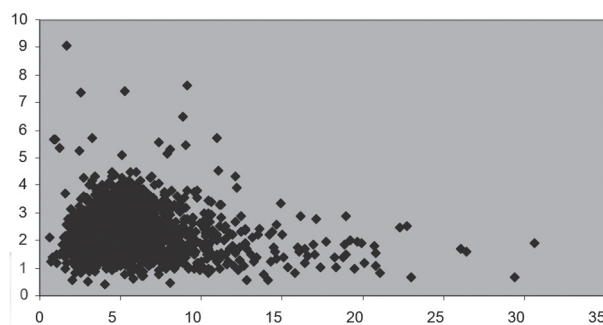


Рис. 5. Соотношение гранулоцитов и лимфоцитов при умеренной СВР (пациенты 7 отделения (n=1 844)). Число клеток выражено в единицах $\times 10^9/\text{л}$

Таким образом, при умеренно выраженной СВР «слоноподобная» конфигурация соотношения гранулоцитов и лимфоцитов была сопряжена лишь с отдельными нозологическими формами заболеваний.

Подводя итоги можно предположить, что при критических состояниях и значительной выраженности СВР, сопровождающейся серьезными комплексными иммунологическими и метаболическими нарушениями, регуляция клеточного состава периферической крови во многом утрачивается и он приобретает признаки хаотической системы [1, 5]. В этих условиях при выраженном увеличении количества гранулоцитов, как нами установлено, появляется достаточно жестко действующий новый фактор (факторы) регуляции содержания лимфоцитов, фиксирующие их уровень в крови в узком диапазоне нижних значений границ нормы ($1-2 \times 10^9/\text{л}$) без развития реальной абсолютной лимфопении [4]. Обнаруженные нами фиксированность содержания лимфоцитов и отсутствие абсолютной лимфопении при значительной вариативности содержания моноцитов и высоком гранулоцитозе у пациентов с критическими состояниями представляет, на наш взгляд, существенный научный и, возможно, практический интерес.

С позиций синергетической парадигмы отмеченную закономерность появления лимфоцитарного «хобота» в условиях нарастающей хаотичности лейкоцитарного состава крови при значительных нарушениях гомеостаза, можно трактовать как формирование особой устойчивой самоорганизующейся количественной структуры лейкоцитов с резким упорядочиванием соотношения гранулоцитов и лимфоцитов.

Возникновение подобного рода самоорганизации и явлений порядка в хаотических диссипативных системах относится к фундаментальным свойствам этих систем [5]. Очевидно, что выявленный нами особый тип взаимоотношения гранулоцитов и лимфоцитов периферической крови требует дальнейшего изучения.

Литература

- Добрых В.А., Овчинникова Л.А., Баткин И.З. и др. Лейкограмма периферической крови и тяжесть течения соматических заболеваний с позиций относительной симметрии // ДМЖ, 2012. – № 2. – С. 94–98.
- Зайцев В.М., Лифляндский В.Г., Маринкин В.И. Прикладная медицинская статистика: монография. – СПб.: ООО «Издательство ФОЛИАНТ», 2003. – 432 с.
- Исследование крови в клинической практике / под ред. Г.И. Козинца и В.А. Макарова: монография. – М.: Триада-Х, 1997. – 480 с.
- Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. – М.: Медицина, 2002. – 544 с.
- Пригожин И.Р., Стенгерс И. Время, хаос, квант: к решению парадокса времени: монография, пер. с англ. – М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ», 2009. – 232 с.
- Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях: монография. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 256 с.
- Черний В.И., Нестеренко А.Н. Нарушения иммунитета при критических состояниях. Особенности диагностики // Интернет-журнал «Внутренняя медицина», 2007. – № 2–3. Режим доступа <http://www.mif-ua.com/archive/issue-10423/>.
- Шабалова Н.Н., Иванов Д.О., Курзина Е.Л. Лейкоцитарные индексы клеточной реактивности при двух вариантах сепсиса // www.Medline-Online. Ru, 26.09.2005. Режим доступа: [http://www.giruda.ru/25_116241\(дата обращения 7.01.2012\).](http://www.giruda.ru/25_116241(дата обращения 7.01.2012).)
- Шиффман Ф.Дж. Патология физиологии крови: монография, пер. с англ. – М. – СПб.: «Издательство Бином»-«Невский диалект», 2000. – 448 с.
- Aosasa S., Ono S., Mochizuki H., et al. Activation of monocytes and endothelial cells depends on the severity of surgical stress // World. J. Surg. – 2000. – Vol. 24. – № 1. – P. 10–16.
- Baker C.C., Degutis L.C., De Santis J.F., Baue A.E. The impact of a trauma service on trauma. Care in university hospital. Am. J. Surg. – 1985. – Vol. 149. – P. 453–458.

12. Bone R.C. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome what we do and do not about cytokine regulation // Crit. Care Med. – 1996. – Vol. 24. – № 1. – P. 163–172.

13. Weiss L.P. Functional organization of hematopoietic tissue. In: Hoffman R.H. et al. (eds). Hematology: Basic principles and Practice, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone, 1995. – P. 193–206.

Координаты для связи с авторами: Добрых Вячеслав Анатольевич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой пропедевтики внутренних болезней ДВГМУ, тел. +7-914-203-36-90, e-mail: sdobrykh@yandex.ru; Овчинникова Людмила Алексеевна – врач-лаборант 301-го ВКГ, Тен Татьяна Климентьевна – канд. мед. наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней ДВГМУ; Уварова Ирина Владимировна – ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней ДВГМУ; Онищенко Ирина Витальевна – заочный аспирант кафедры пропедевтики внутренних болезней ДВГМУ.



УДК 616.5-018.7-006:[616.013.92:612.015.8]:616-038

О.А. Лебедько^{1,2}, С.Г. Сапунцова¹, М.Ю. Флейшман¹, А.Ю. Мартыненко¹, С.С. Тимошин¹

ПРОЦЕССЫ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ЛОКАЛЬНЫЙ ОКСИДАТИВНЫЙ СТРЕСС В ПОКРОВНЫХ ЭПИТЕЛИЯХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

¹Дальневосточный государственный медицинский университет,
680000, ул. Муравьева-Амурского, 35, тел. 8-(4212)-32-63-93, e-mail: nauka@mail.fesmu.ru;

²Институт охраны материнства и детства СО РАМН,
680022, ул. Воронежская, 49, кор. 1, тел. 8-(4212)-98-05-91, г. Хабаровск

Резюме

Изучали состояние процессов пролиферации (методом иммуногистохимии по экспрессии Ki-67) в эпителии кожи при atopическом дерматите (АД) и красном плоском лишае (КПЛ), в эпителии слизистой оболочки терминального отдела повздошной кишки при болезни Крона, в эпителии слизистой оболочки прямой кишки при геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС). Во всех случаях наблюдалась гиперрегенераторная реакция эпителия. При АД индекс Ki-67 позитивных ядер увеличился ($p < 0,05$) до $28,40 \pm 2,00$ %, при КПЛ – до $32,60 \pm 1,90$ % по сравнению с $8,65 \pm 1,31$ % в контроле. Индекс меченых ядер при болезни Крона составил $24,05 \pm 1,17$ %, в контроле – $10,64 \pm 0,62$ % ($p < 0,05$). При ГЛПС индекс экспрессии Ki-67 увеличился в 3,4 раза и составил $33,25 \pm 5,24$ % по сравнению с $9,89 \pm 1,87$ % в контроле ($p < 0,05$). Гиперрегенерация эпителия сопровождалась развитием локального оксидативного стресса. Показатели спонтанной, Fe^{2+} – индуцированной, H_2O_2 – индуцированной-люминолзависимой хемилюминесценции гомогенизированных биоптатов кожи при КП и АД, повздошной кишки при болезни Крона и прямой кишки при ГЛПС в 1,5–3,8 раза превышали соответствующие контрольные уровни. Обсуждается универсальность сочетания активации пролиферации и локального оксидативного стресса в покровных эпителиях при различных патологических процессах.

Ключевые слова: эпителий, пролиферация, оксидативный стресс, заболевания человека.

О.А. Lebed'ko^{1,2}, S.G. Sapuntsova¹, M.Yu. Fleyshman¹, A.Yu. Martynenko¹, S.S. Timoshin¹

STATE OF PROLIFERATION ASSOCIATED WITH THE LOCAL OXIDATIVE STRESS IN THE SURFACE EPITHELIUM IN VARIOUS DISEASES

¹Far Eastern State Medical University;

²Mother and Child Care Institute of Siberian Branch of Russian Academy for Medical sciences, Khabarovsk

Summary

We studied the status of proliferation processes (Ki67-immunohistochemistry) in skin epithelium from patients with atopical dermatitis (AD) and lichen planus (LP), in mucosal epithelium of the terminal part of the ileum from patients with Crohn's disease, in rectal mucosa epithelium from patients with hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS). Epithelial hyperregeneration was observed in all patient groups. The index of Ki-67-positive nuclei increased ($p < 0,05$) to $28,40 \pm 2,00$ % in patients with AD and to $32,6 \pm 1,9$ % in patients with LP vs. $8,65 \pm 1,31$ % in the reference sample. Labeling index increased ($p < 0,05$) to $24,05 \pm 1,17$ % in patients with Crohn's disease vs. $10,64 \pm 0,62$ % in the reference sample. The index expression of Ki-67 in patients with HFRS was 3,4 fold higher compared to the reference group ($33,25 \pm 5,24$ % vs. $9,89 \pm 1,87$ %, $p < 0,05$). Epithelial hyperregeneration followed by the development of local oxidative stress. Spontaneous,