

УДК 616.28-008-07

Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных хроническим гнойным средним отитом

Байке Е.В.^{1,2}, Уразова О.И.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 672090, Чита, ул. Горького, 39а

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 634050, Томск, Московский тракт, 2

Цель исследования — анализ изменений активности лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) у больных хроническим гнойным средним отитом (ХГСО) до начала и на 2-е и 10-е сутки лечения. **Материалы и методы.** Обследованы 299 пациентов с ХГСО, из них 146 с туботимпанальной формой (мезотимпанит) и 153 с эптитимпано-антральной формой (эпитимпанит) болезни. Лимфоциты и тромбоциты выделяли из цельной крови методом градиентного центрифугирования для определения показателя ЛТА по методу Ю.А. Витковского. Рассчитывали количество лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов (ЛТАг) и число тромбоцитов, адгезированных на поверхности одного лимфоцита, или степень адгезии (лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс — ЛТИ). Субпопуляционный состав лимфоцитов ($CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD22^+$) в крови и агрегатах с тромбоцитами определяли с помощью моноклональных антител. Для измерения концентрации интерлейкинов (IL) 1β и 10 в сыворотке крови применяли иммуноферментный анализ. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента. Критический уровень значимости принимался равным 0,05. **Результаты.** У больных с разными формами ХГСО до лечения отмечается снижение общего количества лимфоцитов, содержания их субпопуляций ($CD4^+$, $CD16^+$, $CD22^+$) и ЛТАг в крови. Одновременно с этим выявляются разнонаправленные изменения ЛТИ: снижение при мезотимпаните и увеличение при эптитимпаните. На 2-е сутки лечения у больных с мезотимпанитом количество ЛТАг (%) и ЛТИ повышаются практически в 2 раза по сравнению с исходными значениями, при этом содержание $CD4^+$ Т-лимфоцитов и $CD16^+$ NK-клеток в крови снижается еще больше. У лиц с эптитимпанитом относительное количество ЛТАг (%) увеличивается на 59,7%, а ЛТИ снижается на 9,2% соответственно. Через 10 дней лечения у больных ХГСО показатели ЛТА проявляют тенденцию к нормализации. **Заключение.** При ХГСО способность лимфоцитов адгезировать на своей поверхности тромбоциты снижается. Динамика лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии на фоне лечения является показателем регрессии воспалительного процесса и эффективности терапии.

Ключевые слова: хронический гнойный средний отит; лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия; иммунитет; гемостаз.

Для цитирования: Байке Е.В., Уразова О.И. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных хроническим гнойным средним отитом. Патогенез. 2018; 16(1): 68—75

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.01.68-75

Для корреспонденции: Байке Елена Викторовна, e-mail: elenabayke@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Поступила: 08.12.2017

Lymphocyte-platelet adhesion in patients with chronic suppurative otitis media

Bayke E.V.^{1,2}, Urazova O.I.²

¹ Chita State Medical Academy, Gorkogo Str. 39a, Chita 672090, Russian Federation

² Siberian State Medical University, Moskovskiy Tract 2, Tomsk 634050, Russian Federation

The study objective was to analyze changes of lymphocyte-platelet adhesion (LPA) activity in patients with chronic suppurative otitis media before and on days 2 and 10 of treatment. **Materials and methods.** The study included 299 patients with chronic suppurative otitis media; 146 patients had the tubotympanal form (mesotympanitis) and 153 patients had the epitimpano-antral form (epitimpanitis) of disease. Lymphocytes and platelets were isolated from whole blood using gradient centrifugation to determine LPA parameters using the method of Yu.A. Vitkovskiy. Counts of lymphocyte-platelet aggregates (LPAg) and platelets adhered to the surface were expressed per lymphocyte (lymphocyte-platelet index, LPI). Lymphocyte subpopulations ($CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD22^+$) were identified in blood and platelet aggregates using monoclonal antibodies. Blood serum concentrations of cytokines IL- 1β and IL-10 were measured by ELISA. Statistical analysis was performed with Student's *t*-test at the significance level of 0.05. **Results.** In patients with different forms of chronic suppurative otitis media, the pretreatment lymphocyte count, content of their subpopulations ($CD4^+$, $CD16^+$, $CD22^+$), and blood

level of LPAg were decreased. At the same time, LPIs changed in different directions; LPI values were decreased in mesotympanitis and increased in epitympanitis. In patients with mesotympanitis on day 2 of treatment, the amount of LPAg (%) and LPI increased almost twofold compared to baseline values while counts of CD4⁺ T-lymphocyte and CD16⁺ NK cells were decreased even more. In patients with epitympanitis, the relative amount of LPAg (%) was increased by 59.7% and LPI was decreased by 9.2%, respectively. In patients with chronic suppurative otitis media after 10 days of treatment, LPA indexes tended to normalize. **Conclusion.** In chronic suppurative otitis media, the capability of lymphocyte surface for platelet adhesion was reduced. Changes in LPA during the treatment indicated regression of the inflammatory process and evidenced the effectiveness of therapy.

Key words: chronic suppurative otitis media; lymphocyte-platelet adhesion; immunity; hemostasis.

For citation: Bayke E.V., Urazova O.I. [Lymphocyte-platelet adhesion in patients with chronic suppurative otitis media]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(1): 68–75 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.01.68-75

For correspondence: Bayke Elena, e-mail: elenabayke@yandex.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 08.12.2017

Введение

В мире хроническим гнойным средним отитом (ХГСО) страдают от 1 до 46% населения, проживающих в развитых и развивающихся странах, это около 65–330 млн человек. Из них 60% имеют значительное снижение слуха [1]. При этом хронический средний отит с холестеатомой выявляется у 24–63% больных ХГСО, у которых костная резорбция обнаруживается в 78,8% и более случаев, что является причиной развития отогенных осложнений [2].

Особенности реализации воспалительной реакции во многом зависят от состояния факторов локального и системного иммунитета организма и их ответной реакции на флоген (антиген). Однако для благополучного завершения воспалительного процесса необходимо адекватное функционирование всех интегральных систем защиты, в частности иммунитета и гомеостаза — их форменных элементов и медиаторов [3, 4]. Тромбоциты — клетки, выполняющие не только гемостатические, но и другие, не относящиеся к гемокоагуляции функции. Одной из них является обеспечение эмиграции лейкоцитов (лимфоцитов и др.) в очаг воспаления путем стимуляции их адгезии к сосудистой стенке с целью последующего участия в реализации иммунных реакций (направленных на локализацию, деструкцию и удаление флогена) и репаративных процессах [5]. Показателем межклеточных взаимодействий при кооперации систем иммунитета и гомеостаза в условиях патологии может служить лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия (ЛТА) [6]. Однако при ХГСО, в патогенезе которого взаимосвязь между иммунитетом и гомеостазом является очень тесной, способность лимфоцитов вступать в контакт с тромбоцитами до конца не установлена, в то время как изучение этого феномена является актуальным для расширения знаний о патогенезе заболевания.

Цель исследования — анализ изменений активности лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии (ЛТА) у больных хроническим гнойным средним отитом (ХГСО) до начала и на 2-е и 10-е сутки лечения.

Материалы и методы

В исследование были включены 299 пациентов (129 (43,1%) мужчин и 170 (56,9%) женщин в возрасте 38,0 ± 4,3 года), находившихся на стационарном лечении в оториноларингологическом отделении Краевой клинической больницы г. Читы. Все обследуемые были разделе-

ны на 2 группы. Первую составили 146 пациентов, страдающих туботимпанальной формой ХГСО (или мезотимпанитом) с мукозным течением воспалительного процесса в среднем ухе. Во вторую группу вошли 153 больных с хроническим эпитимпано-антральным средним отитом (эпитимпанитом) и кариозно-деструктивными изменениями в среднем ухе. В контрольную группу были включены 183 здоровых доноров — жителей Забайкальского края (79 (43,2%) мужчин и 104 (56,8%) женщин в возрасте 33,2 ± 2,6 года).

Всем обследуемым выполнялись стандартные общеклинические (общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи), бактериологическое (мазок из уха на микрофлору и чувствительность к антибиотикам) и рентгенологическое исследования. Состояние слуховой функции определялось с помощью акуметрии и тональной пороговой аудиометрии.

Лабораторные исследования у всех пациентов были проведены на момент поступления, на 2-е и 10-е сутки комбинированного (хирургического и консервативного) лечения в стационаре. Консервативная терапия включала туалет уха, местную антибактериальную терапию, прием антигистаминных средств и физиолечение. Хирургические вмешательства на среднем ухе (слухолулучшающие операции у пациентов с мезотимпанитом, saniрующие операции с элементами реконструкции слуховой цепи у больных с эпитимпанитом) выполнялись под контролем микроскопии в условиях общей анестезии с применением как заушного, так и эндаурального подходов.

Подсчет общего числа лейкоцитов в крови проводили стандартным методом в камере Горяева. Определение показателей ЛТА, относящихся к тестам для оценки функционального состояния иммунокомпетентных клеток и активности воспаления, проводили по методу, предложенному Ю.А. Витковским и соавт. (1999) [7]. Для совместного выделения лимфоцитов и тромбоцитов свежую гепаринизированную кровь наслаивали на градиент плотности фиколл-урографина (плотность 1,077 г/мл) и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 40 мин. После центрифугирования кольца, содержащие лимфоциты (нижнее) и тромбоциты (верхнее), собирали пипеткой в одну пробирку с 5 мл физиологического раствора и центрифугировали при 1500 об/мин в течение 4 мин. Надосадочную жидкость сливали, осадок микроскопировали в камере Горяева. ЛТА оценивали по числу лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов (ЛТАг) на 100 клеток. Резу-

льтаты выражали в процентах и (в пересчете на абсолютное количество лимфоцитов в крови) $\times 10^9/\text{л}$. По суммарному количеству кровяных пластинок на поверхности одного лимфоцита, деленных на общее число ЛТАг рассчитывали среднее число тромбоцитов, присоединившихся к лимфоцитам, т.е. лимфоцитарно-тромбоцитарный индекс (ЛТИ, или степень адгезии).

Для определения субпопуляций лимфоцитов в лунки полистирольного планшета вносили моноклональные антитела к антигенам CD3 (Т-лимфоциты), CD4 (Т-лимфоциты-хелперы), CD8 (цитотоксические Т-лимфоциты, или ЦТЛ), CD22 (В-лимфоциты), CD16 (натуральные киллеры — НК-клетки) («ДиагноТех», г.Москва), инкубировали 2 ч при комнатной температуре, далее дважды промывали фосфатно-солевым буфером (PBS, pH = 7,4). Затем в «сенсibilизированные» лунки вносили взвесь выделенных из крови лимфоцитов и инкубировали их в течение 1 ч при 37°C. Не прикрепившиеся к поверхности планшета клетки удаляли двукратным промыванием PBS. Оставшиеся клетки (лимфоциты, несущие конкретный CD-антиген) подсчитывали в камере Горяева. Результаты выражали в $\times 10^9/\text{л}$. Для подсчета количества ЛТАг (%) с включением в них лимфоцитов определенных субпопуляций (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD22⁺, CD16⁺) дополнительно в лунки планшета добавляли аутологичную плазму, обогащенную тромбоцитами, в объемном соотношении 2:1 и инкубировали в течение 30 мин, после чего подсчитывали ЛТАг (в % на 100 клеток) в камере Горяева.

Для определения концентрации интерлейкинов (IL) в сыворотке крови (IL-1 β , IL-10) применяли метод твердофазного иммуноферментного анализа в соответствии с инструкциями производителя наборов реагентов («Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Полученные данные обрабатывали с помощью пакетов программ BIOSTAT, STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США). Характер распределения выборочных данных определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Для оценки значимости различий средних значений независимых выборок с нормальным распределением использовали t-критерий Стьюдента. В случае сравнения средних значений нормально распределенных связанных

совокупностей «до и после» применяли парный t-критерий Стьюдента. Статистически значимыми различия считали при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Поскольку выборочные данные групп исследования соответствовали нормальному распределению, мы использовали параметрические методы представления и анализа данных.

В ходе проведенного исследования у больных ХГСО на момент поступления обнаруживался лейкоцитоз ($p < 0,001$). Одновременно у пациентов с разными формами ХГСО отмечалось снижение общего количества лимфоцитов и числа их основных субпопуляций CD4⁺, CD16⁺, CD22⁺ в крови, что указывает на наличие Т-, НК- и В-клеточного иммунодефицита. Степень его выраженности соответствовала тяжести патологического процесса в среднем ухе (табл. 1).

Снижение активности ЛТА регистрировали при обеих формах ХГСО, более выраженное при кариозно-деструктивном течении болезни (табл. 2).

Так, у больных ХГСО отмечалось снижение относительного (%) и абсолютного ($\times 10^9/\text{л}$) количества ЛТАг (табл. 2). Наряду с дефицитом Т-клеток, несущих антиген CD4⁺ (на 16,5 и 23,5% ниже нормы при мезотимпаните и эптитимпаните соответственно), обнаруживалось снижение количества ЛТАг (%), образованных CD4⁺ лимфоцитами (на 38,2% при мезотимпаните и 8,6% при эптитимпаните). Одновременно с этим выявлялись агрегаты с включением CD16⁺ НК-клеток (табл. 1, 2). Отмечалось увеличение количества ЛТАг с CD3⁺ лимфоцитами (%), — у больных с мезотимпанитом на 11,4% и с эптитимпанитом на 64,8% относительно контрольных значений, в то время как общее количество Т-лимфоцитов (CD3⁺ клеток, $\times 10^9/\text{л}$) у больных ХГСО обеих клинических групп было сопоставимым с нормой (табл. 1, 2).

При межгрупповом сравнении показателей ЛТА выявлено, что в крови у лиц, страдающих эптитимпанитом, относительное (%) и абсолютное ($\times 10^9/\text{л}$) количество ЛТАг превышало их содержание у больных с мезотимпанитом более чем в 1,3 раза, а количество кровяных пластинок,

Таблица 1

Общее количество лейкоцитов, лимфоцитов и их субпопуляционный состав в крови у больных ХГСО до лечения (M \pm m)

Показатели		Здоровые доноры (n = 183)	Больные с мезотимпанитом (n = 146)	Больные с эптитимпанитом (n = 153)
Общее количество лейкоцитов, $\times 10^9/\text{л}$		6,41 \pm 0,91	10,62 \pm 0,72 $p < 0,001$	10,35 \pm 0,53 $p < 0,001$
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$		2,11 \pm 0,01	1,92 \pm 0,08 $p = 0,019$	1,82 \pm 0,06 $p < 0,001$
Субпопуляции лимфоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	CD3 ⁺	1,28 \pm 0,15	1,14 \pm 0,09	1,01 \pm 0,07
	CD4 ⁺	0,85 \pm 0,03	0,71 \pm 0,06 $p = 0,037$	0,65 \pm 0,04 $p < 0,001$
	CD8 ⁺	0,56 \pm 0,10	0,51 \pm 0,09	0,48 \pm 0,08
	CD16 ⁺	0,28 \pm 0,03	0,21 \pm 0,05	0,18 \pm 0,04 $p = 0,046$
	CD22 ⁺	0,39 \pm 0,07	0,25 \pm 0,03 $p = 0,049$	0,21 \pm 0,03 $p = 0,018$
Примечание. p — уровень статистической значимости различий по сравнению с группой здоровых доноров.				

адгезированных на поверхности одного лимфоцита (ЛТИ), было в 2,2 раза больше, чем в группе сравнения (табл. 2). Более высокая активность ЛТА при эпителимпаните сочеталась с более выраженной адгезией с тромбоцитами лимфоцитов CD3⁺, CD4⁺ и CD16⁺ — на 47,9, 47,9 и 75,0% соответственно по сравнению с показателями у больных с мезотимпанитом (табл. 2). При этом изменения ЛТИ у пациентов сравниваемых клинических групп носили разнонаправленный характер. Так, степень адгезии у больных с мезотимпанитом была на 43,9% ниже, а у пациентов с эпителимпанитом, напротив, на 22,6% выше относительно ЛТИ у здоровых доноров (табл. 2).

На 2-е сутки комбинированного лечения у пациентов обеих клинических групп отмечалось увеличение показателей ЛТА по сравнению с нормой — относительного количества ЛТАг (при нормализации их абсолютного числа) и ЛТИ (степени адгезии). Так, количество ЛТАг (%) увеличивались у пациентов с мезотимпанитом на 94,6%, а у лиц, страдающих эпителимпанитом — на 59,8% сравнительно с их исходными значениями на момент поступления (табл. 3). Наряду с этим численность ЛТАг (%) на 2-е сутки лечения у больных ХГСО первой (с мезотимпанитом) и второй (с эпителимпанитом) групп оказалась выше, чем у здоровых доноров — на 10,6 и на 18,7% соответственно. При этом их относительное количество у пациентов второй группы превышало концентрацию ЛТАг (%) в крови у больных первой группы на 7,3% (табл. 3).

На фоне развивающегося у больных с мезотимпанитом и эпителимпанитом на 2-е сутки лечения дефицита Т-клеток (CD3⁺, $\times 10^9/\text{л}$) (на 33,6 и 43,7% сравнительно с нормой соответственно) относительное содержание ЛТАг с CD3⁺ лимфоцитами в их крови становилось выше по сравнению с исходными значениями на момент поступления (в 1,8 и 1,6 раза соответственно) и у здоровых доноров (в 2,0 и 2,7 раза соответственно) (табл. 3). Разница между количеством ЛТАг с включением CD3⁺ лимфоцитов (%) у больных ХГСО первой и второй клинических групп составила 36,2% с преобладанием их численности при эпителимпаните (табл. 3).

На 2-е сутки лечения у больных с мезотимпанитом и эпителимпанитом прирост количества содержащих CD4⁺ лимфоциты ЛТАг в крови (%) относительно исходных значений (в 2,5 и 1,8 раза соответственно) и нормы (на 56,0 и 72,6% соответственно) сочетался с сохраняющимся (и даже в некоторой степени более выраженным, чем до лечения) дефицитом CD4⁺ Т-клеток ($\times 10^9/\text{л}$) (табл. 3). При этом относительное содержание агрегатов с включением CD4⁺ лимфоцитов у пациентов с кариозно-деструктивным течением ХГСО было на 10,7% выше, чем у больных с мезотимпанитом (табл. 3).

Такая же тенденция прослеживалась и в отношении абсолютного количества CD16⁺ НК-клеток и относительного содержания ЛТАг с CD16⁺ НК-клетками (%) у больных с ХГСО. Снижение абсолютного количества CD16⁺ НК-клеток ($\times 10^9/\text{л}$) в крови при мезотимпаните и эпителимпаните сопровождалось увеличением относительного количества ЛТАг с CD16⁺ НК-клетками (на 57,6 и 31,3% соответственно) по сравнению с их исходными значениями на момент поступления в стационар (табл. 3). При этом у больных с эпителимпанитом на 2-е сутки лечения содержание ЛТАг с НК-клетками (%) было 1,5 раза выше, чем во второй группе больных ХГСО (табл. 3).

Одновременно с этим у больных с мезотимпанитом на 2-е сутки лечения выявлялось увеличение числа кровяных пластинок, адгезированных на поверхности одного лимфоцита, по сравнению со значениями ЛТИ на момент поступления (в 2,0 раза) и в контроле (на 10,7%) (табл. 3). В крови у пациентов с эпителимпанитом, наоборот, степень адгезии оказалась ниже, чем до лечения на 9,2%, но выше ЛТИ у здоровых доноров на 11,3% (табл. 3).

На 10-е сутки комплексного лечения у больных ХГСО отмечалась тенденция к нормализации субпопуляционного состава лимфоцитов и значений ЛТА. При этом общее количество лимфоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) у пациентов с мезотимпанитом и абсолютное количество CD3⁺ и CD16⁺ лимфоцитов ($\times 10^9/\text{л}$) у больных ХГСО обеих групп исследования восстанавливалось до нормы. Количество CD4⁺ Т-клеток

Таблица 2

Показатели лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных ХГСО до лечения (M ± m)

Показатели	Здоровые доноры (n = 183)	Больные с мезотимпанитом (n = 146)	Больные с эпителимпанитом (n = 153)
ЛТАг, %	14,69 ± 0,05	8,35 ± 0,18 p1<0,001	10,91 ± 0,17 p1,2<0,001
ЛТАг, $\times 10^9/\text{л}$	0,30 ± 0,03	0,17 ± 0,02 p1<0,001	0,23 ± 0,02 p2<0,001
ЛТИ	3,19 ± 0,08	1,79 ± 0,07 p1<0,001	3,91 ± 0,12 p1,2<0,001
% ЛТАг с CD3 ⁺ Т-лимфоцитами	7,81 ± 0,04	8,70 ± 0,06 p1<0,001	12,87 ± 0,05 p1,2<0,001
% ЛТАг с CD4 ⁺ Т-лимфоцитами	36,47 ± 1,13	22,53 ± 0,07 p1<0,001	33,33 ± 0,06 p1 = 0,005 p2<0,001
% ЛТАг с CD8 ⁺ Т-лимфоцитами	0	0	0
% ЛТАг с CD22 ⁺ В-лимфоцитами	0	0	0
% ЛТАг с CD16 ⁺ НК-лимфоцитами	0	19,04 ± 0,04	33,33 ± 0,06 p2<0,001

Примечание. p1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с группой здоровых доноров; p2 — уровень статистической значимости различий между больными с мезотимпанитом и эпителимпанитом.

($\times 10^9/\text{л}$), учитывая незначительное его повышение, в среднем сохранялось ниже, чем у здоровых доноров (табл. 4).

Абсолютное количество ЛТАг ($\times 10^9/\text{л}$) у больных ХГСО на 10-е сутки (как и на 2-й день) лечения сохраня-

лось в пределах нормы. При этом относительное количество ЛТАг (%) снижалось по сравнению с их количеством на 2-е сутки лечения и в контроле — в первой группе на 17,8 и 9,0%, во второй группе — на 22,7 и 8,3% соответст-

Таблица 3

Показатели лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных ХГСО на 2-е сутки лечения ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые доноры (n = 183)	Больные с мезотимпанитом (n = 146)	Больные с эпитимпанитом (n = 153)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2,11 \pm 0,01	2,03 \pm 0,06	1,95 \pm 0,03 p1<0,001 p3 = 0,263
ЛТАг, %	14,69 \pm 0,05	16,25 \pm 0,07 p1,3<0,001	17,43 \pm 0,04 p1,2,3<0,001
ЛТАг, $\times 10^9/\text{л}$	0,31 \pm 0,03	0,33 \pm 0,04 p3<0,001	0,34 \pm 0,05
ЛТИ	3,19 \pm 0,08	3,53 \pm 0,06 p1 = 0,005 p3<0,001	3,55 \pm 0,03 p1<0,001 p3 = 0,003
CD3 ⁺ Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,28 \pm 0,15	0,85 \pm 0,06 p1 = 0,008 p3 = 0,007	0,72 \pm 0,03 p1,3<0,001
% ЛТАг с CD3 ⁺ Т-лимфоцитами	7,81 \pm 0,04	15,29 \pm 0,05 p1,3<0,001	20,83 \pm 0,04 p1,2,3<0,001
CD4 ⁺ Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,85 \pm 0,03	0,58 \pm 0,11 p1<0,001	0,54 \pm 0,08 p1<0,001
% ЛТАг с CD4 ⁺ Т-лимфоцитами	36,47 \pm 1,13	56,89 \pm 0,12 p1,3<0,001	62,96 \pm 0,05 p1,2,3<0,001
CD16 ⁺ NK-клетки, $\times 10^9/\text{л}$	0,28 \pm 0,03	0,10 \pm 0,07 p1 = 0,018	0,08 \pm 0,04 p1<0,001
% ЛТАг с CD16 ⁺ NK-клетками	0	30,00 \pm 0,06 p3<0,001	43,75 \pm 0,03 p2,3<0,001

Примечание. p1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с группой здоровых доноров; p2 — между больными с мезотимпанитом и эпитимпанитом; p3 — до и на 2-е сутки лечения.

Таблица 4

Показатели лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии у больных ХГСО на 10-е сутки лечения ($M \pm m$)

Показатели	Здоровые доноры (n = 183)	Больные с мезотимпанитом (n = 146)	Больные с эпитимпанитом (n = 153)
Лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	2,11 \pm 0,01	2,02 \pm 0,06	1,93 \pm 0,09 p1<0,001
ЛТАг, %	14,69 \pm 0,05	13,36 \pm 0,07 p1,3,4<0,001	13,47 \pm 0,06 p1,3,4<0,001
ЛТАг, $\times 10^9/\text{л}$	0,31 \pm 0,03	0,27 \pm 0,05 p3 = 0,041	0,26 \pm 0,06
ЛТИ	3,19 \pm 0,08	3,08 \pm 0,07 p3,4<0,001	3,17 \pm 0,05 p3,4<0,001
CD3 ⁺ Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	1,28 \pm 0,15	1,25 \pm 0,06 p4<0,001	1,19 \pm 0,07 p4<0,001
% ЛТАг с CD3 ⁺ Т-лимфоцитами	7,81 \pm 0,04	8,60 \pm 0,07 p1,4<0,001	9,21 \pm 0,05 p1,2,3,4<0,001
CD4 ⁺ Т-лимфоциты, $\times 10^9/\text{л}$	0,85 \pm 0,03	0,62 \pm 0,03 p1<0,001	0,58 \pm 0,06 p1<0,001
% ЛТАг с CD4 ⁺ Т-лимфоцитами	36,47 \pm 1,13	43,54 \pm 0,06 p1,3,4<0,001	44,82 \pm 0,05 p1,3,4<0,001
CD16 ⁺ NK-клетки, $\times 10^9/\text{л}$	0,28 \pm 0,03	0,23 \pm 0,04	0,21 \pm 0,03
% ЛТАг с CD16 ⁺ NK-клетками	0	0	0

Примечание. p1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с группой здоровых доноров; p2 — между больными с мезотимпанитом и эпитимпанитом; p3 — до и на 10-е сутки лечения; p4 — на 2-е и 10-е сутки лечения.

венно. Однако по сравнению с периодом до лечения оно, напротив, возрастало — на 60,0 и 23,5% при мезотимпаните и эптитимпаните соответственно (табл. 4).

Относительное количество ЛТАг с CD3⁺ лимфоцитами (%) в крови у пациентов с мезотимпанитом и эптитимпанитом на 10-е сутки наблюдения было выше контрольных значений (на 10,1 и 17,9% соответственно), но с тенденцией к нормализации их уровня относительно 2-го дня лечения (со снижением на 43,8 и 55,8% соответственно). При этом у пациентов с кариозно-деструктивным течением ХГСО количество ЛТАг с CD3⁺ Т-клетками (%) было на 7,0% выше, чем у больных с мукозным течением болезни (табл. 4).

Количество ЛТАг с CD4⁺ Т-клетками (%) у пациентов первой и второй групп сохранялось выше нормы (на 19,4 и 22,9% соответственно), но снижалось относительно их содержания в крови на 2-е сутки лечения (на 23,5 и 28,8% соответственно) (табл. 4). Прирост относительного количества ЛТАг с включением в их состав CD4⁺ Т-клеток на 10-е сутки лечения по сравнению с исходными данными (до лечения) у больных с мезотимпанитом и эптитимпанитом составил 93,3 и 34,5% соответственно (табл. 4).

В конце лечения также отмечалась нормализация ЛТИ. Он снижался у больных с мезотимпанитом и эптитимпанитом по сравнению с его значениями на 2-е сутки лечения на 12,7% и 10,7% соответственно, а у пациентов с кариозно-деструктивным течением ХГСО относительно периода до лечения на 18,9%. В то же время увеличение ЛТИ при мезотимпаните с момента госпитализации составило 72,1% (табл. 4).

Таким образом, развитие патологического процесса в среднем ухе по кариозно-деструктивному и мукозному вариантам ассоциируется с изменениями активности ЛТА разной степени выраженности и (в случае ЛТИ) направленности. Так в чем же биологическая сущность этого феномена при ХГСО?

ЛТА, являясь объективным тестом, характеризует состояние иммунитета и гемостаза [8, 9]. Воспалительный процесс в среднем ухе, как и любой другой локализации, сопровождается явлениями первичной и вторичной альтерации с нарушением целостности эндотелия сосудов, изменением его адгезивных свойств, что побуждает эмиграцию лейкоцитов в очаг воспаления с целью его санации и осуществления репаративных функций, направленных на восстановление ткани после повреждения флогогеном и медиаторами воспаления [10]. Тромбоциты, синтезируя и секретировав значительное число биологически активных соединений, способны контактировать напрямую с клетками эндотелия сосудов, гранулоцитами, моноцитами и лимфоцитами, обеспечивая их взаимодействие с коллагеновыми волокнами. Более того, тромбоциты, содержащие сократительные белки и способные к самостоятельному передвижению, содействуют эмиграции лейкоцитов в очаг повреждения, осуществляют трофическую и репаративную функции путем секреции соответствующих факторов [11, 12]. Особенность лимфоцитов адгезировать на своей поверхности тромбоциты связана с экспрессией поверхностных молекул контактного взаимодействия — прежде всего, интегринов (β -суперсемейства, включая LFA, или Lymphocyte Function Associated Antigen) и селектинов (Е на лейкоцитах и Р на тромбоцитах), которые опосредуют взаимодействие клеток между собой, с эндотелием и субэндоте-

лием, способствуют развитию иммунных реакций, тромбоза и реализации феномена ЛТА [13, 14].

Осуществление контроля за механизмом ЛТА происходит также за счет сбалансированного действия провоспалительных и противовоспалительных цитокинов на тромбоциты и лейкоциты [13].

Результаты наших исследований позволяют утверждать, что при ХГСО происходят существенные сдвиги со стороны клеточных и гуморальных факторов защиты, связанных с системой крови. Мы установили, что тенденция к снижению общего и относительного количества лимфоцитов в крови у пациентов с ХГСО находится в прямой зависимости от тяжести течения воспалительного процесса в среднем ухе. Это объясняется тем, что при хроническом воспалении ведущими клетками, эмигрирующими в очаги альтерации, являются макрофаги, дифференцирующиеся из моноцитов крови, и лимфоциты [3, 14, 15]. Вместе с лимфоцитопенией у больных ХГСО регистрировалось снижение значений ЛТА относительно нормы, однако факторы, определяющие количество агрегатов лимфоцитов и тромбоцитов в крови, были различными и обуславливались характером течения патологического процесса.

Так, у больных с хроническим туботимпанальным гнойным средним отитом малое количество агрегатов, вероятнее всего, явилось результатом как Т-клеточного иммунодефицита (ввиду снижения количества Т-лимфоцитов-хелперов), так и феномена лейкоцитарной депрессии, характерного для вялотекущих воспалительных заболеваний [16]. Это подтверждается уменьшением ЛТИ у больных с мезотимпанитом относительно ЛТИ у здоровых лиц (табл. 1).

При холестеатомно-деструктивном процессе в среднем ухе ЛТИ, напротив, превышал норму. Известно, что активированные лимфоциты адгезируют тромбоциты и, благодаря ретракции последних, продвигаются через поврежденную стенку сосуда вглубь травмированного участка ткани, где развивается иммунный ответ [17]. Можно думать, что снижение относительного количества ЛТАг у пациентов с эптитимпано-антральной формой ХГСО явилось результатом усиленной эмиграции лимфоцитов из сосудистого русла в очаг повреждения, что на фоне хронического воспаления может совмещаться с истощением гемопозитической функции костного мозга.

С другой стороны, известно, что при различных патологических процессах сдвиги ЛТА протекают в две фазы. Вначале число лимфоцитов и связанных с ними кровяных пластинок увеличивается в 2–3 раза, а по мере развития заболевания резко снижается. Этим, по-видимому, и объясняется установленное нами снижение относительного (%) и (при мезотимпаните) абсолютного ($\times 10^9/\text{л}$) количества ЛТАг в крови у больных ХГСО на момент поступления в стационар ввиду длительно протекающего воспалительного процесса. Однако на 2-е сутки после оперативного вмешательства на фоне снижения абсолютного количества Т-лимфоцитов и НК-клеток в крови относительное содержание ЛТАг увеличивалось (в 1,6 и 2 раза в первой и второй группах соответственно) с дальнейшей тенденцией к нормализации их численности на 10-е сутки консервативной терапии. Абсолютное количество ЛТАг восстанавливалось уже на 2-е сутки лечения.

Увеличение активности ЛТАг при воспалении (равно как и на 2-й день оперативного вмешательства у больных

Содержание интерлейкинов IL-1 β и IL-10 в сыворотке крови (пг/мл) у больных ХГСО до лечения (M \pm m)

Группы исследования	IL-1 β	IL-10
Здоровые доноры (n = 183)	0	0,32 \pm 0,13
Больные с мезотимпанитом (n = 146)	12,43 \pm 0,08	1,44 \pm 0,07 p1<0,001
Больные с эптитимпанитом (n = 153)	18,59 \pm 0,05 p2<0,001	1,72 \pm 0,09 p1<0,001, p2 = 0,014

Примечание. p1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с группой здоровых доноров; p2 — между больными с мезотимпанитом и эптитимпанитом.

ХГСО) может быть связано с повреждением тканей, поступлением в кровь индукторов агрегации тромбоцитов (АДФ, катехоламинов, тромбина, фактора активации тромбоцитов и др.) и секрецией провоспалительных цитокинов. Известно, что IL-1 β и IL-2, стимулируя функции макрофагов, Т-хелперов 1 и 2 типов, НК- и НКТ-клеток, самым активным образом участвуют в механизмах ЛТА в очаге воспаления [18]. При действии провоспалительного IL-1 β активируются макрофаги, которые продуцируют факторы активации Th1-лимфоцитов. Th1, в свою очередь, вырабатывают IL-2, обладающий свойствами митогена в отношении Т-лимфоцитов всех субпопуляций, НК- и НКТ-клеток. Кроме того, IL-2 является специфическим индуктором экспрессии иммуноглобулиноподобных молекул адгезии ICAM-1 (Intercellular Adhesion Molecule) на Т- и В-лимфоцитах [19].

Нами выявлено, что у лиц, страдающих ХГСО, повышалось содержание провоспалительного IL-1 β в сыворотке крови (табл. 5). При этом у больных с эптитимпано-антральной формой ХГСО концентрация IL-1 β в крови была на 49,5% выше, чем у пациентов с хроническим туботимпанальным средним отитом.

Различия в содержании IL-1 β в сыворотке крови у пациентов с мезотимпанитом и эптитимпанитом, по нашему мнению, определяются участием продуктов тканевого распада и других медиаторов воспаления (в том числе лимфоцитарных) в активации вырабатывающих его макрофагов при условии продолжающегося воспаления, влияющего на особенности морфологических изменений в среднем ухе при ХГСО.

Общеизвестно, что регресс воспаления связан с повышением секреции клетками очага, в частности толерогенными макрофагами с иммунорегуляторной активностью и супрессорными регуляторными Т-лимфоцитами (Treg), противовоспалительных цитокинов — IL-10, трансформирующего фактора роста β (TGF β) и др. (результатом чего является повышение их содержания в крови). Увеличение содержания IL-10 в микроокружении, по данным литературы, сопровождается торможением ЛТА и, как следствие, миграции иммунокомпетентных клеток в очаг повреждения [7, 19]. Оказываемый IL-10 эффект позволяет регулировать, а на завершающей стадии блокировать миграционный поток лимфоцитов в очаг воспаления. Одновременно с этим IL-10, замедляя свертываемость крови и стимулируя фибринолиз, устраняет гиперкоагуляцию и стаз (первичный и венозный), являющиеся следствием изменений реологических свойств крови и микроциркуляции, связанных с воспалением [20]. Однако у лиц с тяжелым кариозно-деструктивным течением отита содер-

жание IL-10 было выше, чем у пациентов с мукозным течением ХГСО, только на 19,4% (табл. 5), что характеризует явную недостаточность IL-10-зависимого противовоспалительного ответа у пациентов с хроническим эптитимпано-антральным средним отитом.

Заключение

При ХГСО способность лимфоцитов адгезировать на своей поверхности тромбоциты снижается. Кариозно-деструктивные изменения в среднем ухе сопровождаются более выраженными изменениями ЛТА. Динамика значений ЛТА на 2-е и 10-е сутки комбинированного лечения позволяет оценить степень его эффективности. Содержание IL-1 β в крови у больных ХГСО коррелирует с тяжестью воспалительного процесса в среднем ухе — при эптитимпаните оно в 1,5 раза выше, чем при мезотимпаните. Концентрация противовоспалительного IL-10 у пациентов с деструктивным течением воспаления в среднем ухе, напротив, превышает его содержание в крови при мукозном течении ХГСО, но, по-видимому, является недостаточной для благоприятного завершения воспалительного процесса в ухе.

Список литературы

1. Гаров Е.В., Гарова Е.Е. Современные принципы диагностики и лечения пациентов с хроническим гнойным средним отитом. *Русский медицинский журнал*. 2012; 27: 1355-9. DOI: 10.1017/s0022215116005375
2. Пальчун В.Т. *Оториноларингология: руководство для врачей*. М.: Гэотар-Медиа; 2013. 616 с.
3. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Итоги 10-летнего исследования механизмов лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. *Забайкальский медицинский вестник*. 2008; 2: 36-41.
4. Фрейдлин И.С. Взаимосвязи врожденного и приобретенного иммунитета при инфекциях (ревизия догм). *Инфекция и иммунитет*. 2011; 1(3): 199-206.
5. Витковский Ю.А., Солпов А.В., Кузник Б.И. Тромбоциты усиливают адгезию лимфоцитов к экстрацеллюлярному матриксу. В кн.: *XX съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова. Тезисы докладов*. М., 2007; 178.
6. Сахарова Д.А., Витковский Ю.А., Емельянова А.Н. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных хроническим вирусным гепатитом С. В кн.: *Гепатология сегодня: сборник XVIII Российского конгресса*. М.: 2013; 41.
7. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Феномен лимфоцитарно-тромбоцитарного розеткообразования. *Иммунология*. 1999; 4: 35-7.
8. Шангина А.М. Показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у пациентов с первичной подагрой. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2011; 101(2): 54-6.
9. Сивкова А.А. Патогенетическое значение феномена лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии и провоспалительных цито-

кинов в развитии неалкогольной жировой болезни печени. *Врач-аспирант*. 2011; 46 (3-4): 578-82.

10. Семинский И.Ж., Майборода А.А. Особенности клеточных реакций в очагах воспаления разной этиологии. Сообщение 4. Факторы, механизмы и критерии хронизации воспаления. *Журнал инфекционной патологии*. 2000; 7 (3-4): 33-8.

11. Миронов А.М. Лимфоцитарно-тромбоцитарная адгезия у больных с переломами длинных трубчатых костей и хроническим остеомиелитом. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2010; 30 (1): 104-8.

12. Vitkovsky Y. Status of platelet-lymphocyte aggregation in circulating blood of patients with type 1 diabetes with and without diabetic nephropathy. *Israel Medical Association Journal*. 2008; 10 (10): 691-4.

13. Витковский Ю.А., Кузник Б.И., Солпов А.В. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии. *Медицинская иммунология*. 2009; 3: 141-3.

14. Кузник Б.И., Витковский Ю.А., Солпов А.В. Адгезивные молекулы и лейкоцитарно-тромбоцитарное взаимодействие. *Вестник гематологии*. 2006; 2 (2): 42-55.

15. Яшан А.И., Герасимюк М.И. Характер изменений соотношений субпопуляций лимфоцитов у больных хроническим декомпенсированным тонзиллитом. *Вестник оториноларингологии*. 2015; 2: 27-30.

16. Сахарова Д.А., Терешков П.П., Витковский Ю.А. Состояние клеточного иммунитета при хроническом вирусном гепатите С в зависимости от некоторых клинических характеристик. *Врач-аспирант*. 2013; 61 (6): 481-8.

17. Sigal A., Bleijs D.A., Grabovsky V. The LFA-1 integrin supports rolling adhesion on ICAM-1 under physiological shear flow in a permissive cellular environment. *Immunology*. 2000; 165: 442-542. DOI: 10.4049/jimmunol.165.1.442

18. Витковский Ю.А. Влияние интерлейкинов $I\beta$, 2, 10, и 16 на взаимодействие лимфоцитарно-тромбоцитарных агрегатов с экстрацеллюлярным матриксом. *Иммунология*. 2006; 27 (3): 141-3.

19. Solpov A., Shenkman B., Vitkovsky Y., Brill G., Koltakov A., Farzam N., Varon D., Bank I., Savion N. Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: Role of platelet aggregation, integrins, and non-integrin receptors. *Thrombosis and Haemostasis*. 2006; 95: 815-21. DOI: 10.1160/th05-07-0524

20. Weyrich A.S., Zimmerman G.A. Platelets: signaling cells in the immune continuum. *Trends Immunol*. 2004; 25 (9): 489-95. DOI: 10.1016/j.it.2004.07.003

References

1. Garov E.V., Garova E.E. [Modern principles of diagnosis and treatment of patients with chronic purulent otitis media]. *Russkii medicinskii zhurnal [Russian Medical Journal]*. 2012; 27: 1355-9. DOI: 10.1017/s0022215116005375 (In Russian)

2. Pal'chun V.T. [Otorhinolaryngology]. M.: Gehotar-Media; 2013. 616 c. (In Russian)

3. Vitkovskii Yu.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. [The results of 10 years research mechanisms of lymphocyte-platelet adhesion]. *Zabajkalskii medicinskii vestnik [Transbaikalian Medical Bulletin]*. 2008; 2: 36-41. (In Russian)

4. Frejdlin I.S. [The relationship of innate and acquired immunity in infections (the revision of the classical dogma)]. *Infekciya i immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2011; 1 (3): 199-206. (In Russian)

Сведения об авторах

Байке Елена Викторовна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры оториноларингологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, докторант кафедры патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Уразова Ольга Ивановна — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, профессор кафедры патофизиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

5. Vitkovskii Yu.A., Solpov A.V., Kuznik B.I. [Platelets enhance adhesion of lymphocytes to extracellular matrix]. In: *XX s'ezd Fiziologicheskogo obshchestva im. I.P. Pavlova. Tezisy dokladov [XX Congress of the Physiological Society. I.P. Pavlova. Theses of reports.]*. M., 2007; 178. (In Russian)

6. Saharova D.A., Vitkovskii Yu.A., Emel'yanova A.N. [Lymphocyte-platelet adhesion in patients with chronic viral hepatitis C]. *Gepatologiya segodnya: sbornik XVIII Rossijskogo kongressa [Hepatology today: a collection of the XVIIIth Russian Congress.]*. M.: 2013; 41. (In Russian)

7. Vitkovskii Yu.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. [The phenomenon of lymphocyte-platelet rosette]. *Immunologiya [Immunology]*. 1999; 4: 35-7. (In Russian)

8. Shangina A.M. [The indicators of vascular-platelet hemostasis in patients with primary gout]. *Sibirskii medicinskii zhurnal (Irkutsk) [The Siberian Medical Journal]*. 2011; 101(2): 54-6. (in Russian)

9. Sivkova A.A. [Pathogenetic significance of the phenomenon of lymphocyte-platelet adhesion and Pro-inflammatory cytokines in the development of nonalcoholic fatty liver disease]. *Vrach-aspirant [Postgraduate Doctor]*. 2011; 46(3-4): 578-82. (in Russian)

10. Seminski I.Zh., Majboroda A.A. [Features cellular reactions in inflammation of different etiology. Message 4. Factors, mechanisms and criteria for the chronicity of inflammation]. *Zhurnal infekcionnoj patologii [Journal of Infectious Diseases]*. 2000; 7(3-4): 33-8. (In Russian)

11. Miromanov A.M. [Lymphocyte-platelet adhesion in patients with fractures of long tubular bones, and chronic osteomyelitis]. *Sibirskii nauchnyj medicinskii zhurnal [The Siberian Scientific Medical Journal]*. 2010; 30(1): 104-8. (In Russian)

12. Vitkovskiy Yu. Status of platelet-lymphocyte aggregation in circulating blood of patients with type 1 diabetes with and without diabetic nephropathy. *Israel Medical Association Journal*. 2008; 10(10): 691-4.

13. Vitkovskii Yu.A., Kuznik B.I., Solpov A.V. [Pathogenetic significance of lymphocyte-platelet adhesion]. *Medicinskaya immunologiya [Medical Immunology]*. 2009; 3: 141-3. (In Russian)

14. Kuznik B.I., Vitkovskii Yu.A., Solpov A.V. [Adhesion molecules and leukocyte-platelet interaction]. *Vestnik gematologii [The bulletin of hematology]*. 2006; 2(2): 42-55. (In Russian)

15. Yashan A.I., Gerasimyuk M.I. [The nature of the changes in the ratios of lymphocyte subpopulations in patients with chronic decompensated tonsillitis]. *Vestnik otorinolaringologii [The bulletin of otorinolaryngology]*. 2015; 2: 27-30. (In Russian)

16. Saharova D.A., Tereshkov P.P., Vitkovskii Yu.A. [The state of cellular immunity in chronic hepatitis C depending on some clinical characteristics]. *Vrach-aspirant [Postgraduate Doctor]*. 2013; 61(6): 481-8. (in Russian)

17. Sigal A., Bleijs D.A., Grabovsky V. The LFA-1 integrin supports rolling adhesion on ICAM-1 under physiological shear flow in a permissive cellular environment. *Immunology*. 2000; 165: 442-542. DOI: 10.4049/jimmunol.165.1.442

18. Vitkovskii Yu.A. [Influence of interleukins $I\beta$, 2, 10, and 16 on the interaction of lymphocyte-platelet aggregates with the extracellular matrix]. *Immunologiya [Immunology]*. 2006; 27(3): 141-3. (in Russian)

19. Solpov A., Shenkman B., Vitkovsky Y., Brill G., Koltakov A., Farzam N., Varon D., Bank I., Savion N. Platelets enhance CD4+ lymphocyte adhesion to extracellular matrix under flow conditions: Role of platelet aggregation, integrins, and non-integrin receptors. *Thrombosis and Haemostasis*. 2006; 95: 815-21. DOI: 10.1160/th05-07-0524

20. Weyrich A.S., Zimmerman G.A. Platelets: signaling cells in the immune continuum. *Trends Immunol*. 2004; 25(9): 489-95. DOI: 10.1016/j.it.2004.07.003