

УДК 616.379-008.64-085

*Н.А. Ница***ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ У ДЕТЕЙ С ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия

Результаты эпидемиологических и экспериментальных исследований свидетельствуют о наличии протромботических изменений в системе гемостаза при инсулинзависимом сахарном диабете [1, 2]. Все большее значение в возникновении и прогрессировании микроангиопатии в последнее время придается нарушению взаимодействия свертывающей и противосвертывающей систем крови, их активаторов и ингибиторов, тромбосан-простаглицлинового баланса, калликреин-кининовой системы, комплемента, а также тромбоцитарно-сосудистого звена системы гемостаза [3, 4]. Однако роль дисфункции эндотелия и тромбоцитов в формировании этих изменений изучена недостаточно. В частности, до сих пор не установлено, являются ли дисфункция и повреждение эндотелия при сахарном диабете следствием [5, 6] или патогенетическим фактором развития его осложнений [7]. Получение ответа на этот вопрос расширит представления о патогенезе микроангиопатии (МИАП) и позволит модифицировать подходы к ее лечению.

Цель данного исследования — комплексная оценка показателей внутрисосудистой активации тромбоцитов, числа эндотелиоцитов периферической крови и фактора Виллебранда у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом (ИЗСД).

**Материалы и методы.** В исследовании принимали участие 48 детей с инсулинзависимым сахарным диабетом: группа 1 ( $n=14$ ) — дети с впервые выявленным диабетом, группа 2 ( $n=22$ ) — пациенты с длительностью заболевания до 5 лет, группа 3 ( $n=12$ ) — пациенты, у которых диагностирована диабетическая микроангиопатия (диабетическая нефропатия, у четверых сочетающаяся с диабетической ретинопатией). Группу контроля (группа 4) составили клинически здоровые дети ( $n=49$ ). Взятие крови у каждого ребенка производилось однократно с согласия пациента и его родителей: у детей 1–3 групп перед выпиской из стационара при достижении компенсации ( $n=38$ ) или субкомпенсации ( $n=10$ ) сахарного диабета по показателям суточной гликемии, гликозилированного гемоглобина, липопротеидов, холестерина и тестов на кетонурию.

Внутрисосудистая активация тромбоцитов оценивалась путем подсчета различных форм тромбоцитов (дискоциты, дискоэхиноциты, сфероциты, сфероэхиноциты) и тромбоцитарных агрегатов методом фазово-контрастной микроскопии по А.С. Шитиковой [8]. Адгезивную способность тромбоцитов оценивали по степени уменьшения их количества вследствие адгезии к стеклу по К. М. Лакину, В. А. Фельдбауму (1969) — определяли процент адгезированных тромбоцитов (ПАТ) [9]. Оценку агрегационной способности тромбоцитов проводили с помощью гемолизат-агрегационного теста по Л. З. Баркагану, Б. Ф. Архипову, В. М. Кучерскому (1980) [10]. Определяли время гемолизат-агрегационного теста в максимальной и минимальной дозе (ГАТ), показатель агрегационной активности одного тромбоцита (ААТ), индекс активации тромбоцитов (ИАТ). Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью стандартных методов вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента.

© Н. А. Ница, 2008

**Результаты и их обсуждения.** Данные, полученные в работе, характеризующие состояние тромбоцитарного звена системы гемостаза, представлены в таблице.

**Показатели агрегационной, адгезионной способности тромбоцитов и внутрисосудистой активации тромбоцитов (ВАТ) у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом ( $M \pm m$ )**

Показатель эндотелиальной дисфункции и ВАТ		Группа 1 (n=14)	Группа 2 (n=22)	Группа 3 (n=12)	Группа 4 (n=49)
Количество циркулирующих эндотелиоцитов (ед./мл)		10,8 ± 1,2*	14,2 ± 1,1*	22,3 ± 1,6*	6 ± 1
Активность фактора Виллебранда (%)		118,9 ± 1,8	140 ± 5*	182,5 ± 7,5*	105 ± 10
Сумма активных форм (ед./100 кл)		21,5 ± 0,8*	23 ± 1,5*	31,5 ± 0,3*	12,5 ± 2
ДЭ (ед./100 кл)		19 ± 1*	18,8 ± 2,2*	28 ± 4*	10,2 ± 4,5
Число тромбоцитов в агрегатах (ед./100 кл)		8,3 ± 1,3*	7,4 ± 0,8	11,7 ± 2,0*	4,3 ± 2,0
Число малых агрегатов (ед./100 кл)		3,8 ± 0,6*	3,2 ± 0,4*	5,0 ± 0,6*	2,0 ± 0,8
Число больших агрегатов (ед./100 кл)		0,15 ± 0,1	0,15 ± 0,1	0,4 ± 0,1*	0,15 ± 0,1
ПАТ (%)		34,3 ± 1,6	39,5 ± 2*	40,5 ± 0,5**	32 ± 1,5
ГАТ (с)	max	14 ± 1	13,5 ± 2,2	14,8 ± 1,2	13,2 ± 1,5
	min	45 ± 2,5	45,5 ± 2	48,5 ± 2,5	45,5 ± 0,5
ААТ (%)		100 ± 2,5	98 ± 3,2	99,5 ± 2,15	98 ± 3,3
ИАТ		0,95 ± 0,25	0,95 ± 0,3	1,2 ± 0,3	0,9 ± 0,2

Примечание. Достоверные отличия от контрольных значений : \* при  $p < 0,05$ ; \*\* при  $p < 0,02$ .

Результаты исследования адгезивно-агрегационной активности тромбоцитов свидетельствовали в основном о повышении их функциональной активности у детей с ИЗСД. Так, повышенный процент адгезированных тромбоцитов наблюдался у детей групп 2 и 3 и составлял соответственно  $39,5 \pm 2$  и  $40,5 \pm 0,5$  ( $p < 0,05$ ;  $p < 0,02$ ) в сравнении со значением  $32 \pm 1,5$  в контрольной группе) (см. таблицу, рис. 1). При сравнении результатов исследования ПАТ между опытными группами больных СД без ДМИАП и имеющих ДМИАП достоверных различий не выявлено. У больных группы 1 не установлено изменений ни адгезионной активности тромбоцитов, ни агрегационной. Ответная реакция на индукторы была такой же, как у лиц контрольной группы ( $p > 0,05$ ). Гемолизат-индуцированная агрегационная активность тромбоцитов у детей с инсулинзависимым сахарным диабетом по показателям времени агрегации, ААТ и ИАТ имеет тенденцию к росту, но показатели повышаются статистически недостоверно как в сравнении с контролем, так и между опытными группами (см. таблицу).

Полученные нами результаты подтверждают литературные данные об отсутствии каких-либо значимых отклонений

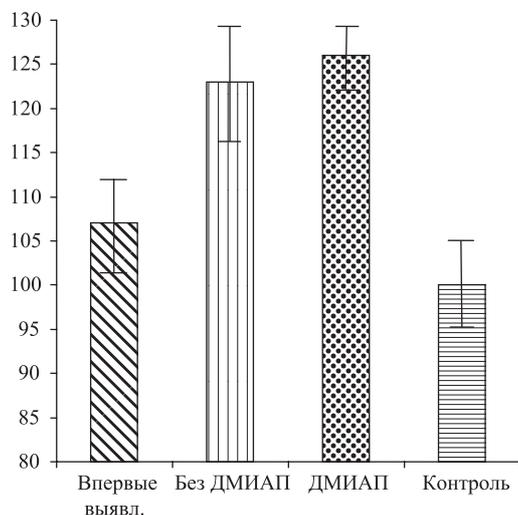


Рис. 1. Процент адгезированных тромбоцитов у детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом, и контрольной группы (по оси абсцисс — обследованные группы больных, по оси ординат — процент адгезированных тромбоцитов).

показателей адгезии и агрегации тромбоцитов как у взрослых, так и у детей при компенсации сахарного диабета [11, 12].

Внутрисосудистая активация тромбоцитов оценивалась микроскопически. Данный метод исследования дает больше информации о динамике процесса, чем инструментальные, и позволяет определить соотношение различных форм тромбоцитов, характер и число образующихся отростков, одновременно произвести количественную оценку имеющихся в исследуемом образце тромбоцитарных агрегатов размером от двух клеток. Именно показатели внутрисосудистой активации тромбоцитов оказались более чувствительными, чем исследование агрегации *in vitro* и индекс агрегации по методу Wu и Ноак [13], так как при использовании данных методов возможно обнаружить тромбоцитарные агрегаты размером более 50 клеток.

У всех детей с инсулинзависимым сахарным диабетом наблюдалась повышенная внутрисосудистая активация тромбоцитов (рис. 2). У больных трех обследуемых групп в кровотоке было обнаружено значительное увеличение суммы активных форм тромбоцитов.

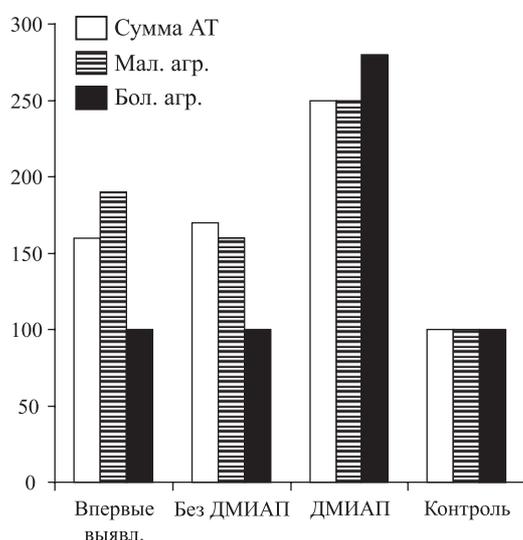


Рис. 2. Общее количество активных форм тромбоцитов (сумма АТ) и число малых и больших тромбоцитарных агрегатов в крови детей, больных ИЗСД, и контрольной группы (по оси абсцисс — обследованные группы, по оси ординат — количество тромбоцитов и агрегатов в %).

При этом до развития сосудистых осложнений данный показатель превышает норму на 70–80 %, с развитием микроангиопатии сумма активных форм тромбоцитов увеличивается по сравнению с контролем на 180 %. С увеличением в кровотоке активированных форм тромбоцитов, нарастает количество малых тромбоцитарных агрегатов (см. рис. 2, таблицу). Данные изменения были выявлены начиная с дебюта сахарного диабета — в группе 1 сумма активированных тромбоцитов превышает показатель контрольной группы на 70 %, в группе 2 — на 90 %, в группе 3 — на 150 %. Увеличение количества больших агрегатов было выявлено лишь в крови детей группы 3 (сахарный диабет, осложненный микроангиопатиями) на 160 % по отношению к контролю, т. е. данный признак является высокочувствительным и специфичным.

Таким образом, у детей, больных инсулинзависимым сахарным диабетом различной длительности и тяжести заболевания, на фоне его компенсации или субкомпенсации выявлены серьезные нарушения тромбоцитарного гемостаза.

Данные изменения присутствуют уже на момент постановки диагноза и нарастают при увеличении длительности заболевания, что указывает на повышение тромбогенного потенциала и повреждение сосудистой стенки начиная с дебюта заболевания с последующим усугублением сосудистых изменений. Эндотелиальная дисфункция, отражением которой является повышение уровня фактора Виллебранда и количества дескванрированных эндотелиоцитов крови, развивается раньше диабетической микроангиопатии и может быть использована в качестве прогностического признака.

## Summary

*Nitsa N. A.* Thrombocytal hemostasis in children with IDDM.

Hemostasis system changes play an important role in the development of Diabetic Microangiopathy. The goal of the present study was to assess some of the hemostasis system parameters in children with Diabetes mellitus. Significant disorders of vascular-platelets-dependent hemostasis have been found in children with compensated Insulin Dependent DM.

*Key words:* diabet, hemostasis, platelets.

## Литература

1. Волкова А.К., Недосугова Л.В., Рудько И.А. и др. // Сахарный диабет. 2000. № 3. С. 8–12.
2. Baskova I. P. et al. Piyavit from Medicinal Leech Is a New Orally Active Anticoagulatory and Antithrombotic Drug // Clin. Appl. Throm. Hemostasis. 2000. Vol. 3. N 1. P. 40–45.
3. Нелаева Л.А., Бышевский А.М., Трошина И.А. и др. Перекисное окисление липидов и гемостаз у больных инсулинозависимым сахарным диабетом // Пробл. эндокринологии. 1998. Т. 44. № 5. С.10–14.
4. Robinson G. S. et al. Angiogenic factors in diabetic ocular disease: mechanisms of today, therapy for tomorrow // Int. Ophthalmol. Clin. 1998. Spring. 38. N 2. P. 89–102.
5. Ефимов А.С. Диабетические ангиопатии. М., 1989. С. 236.
6. Шестакова С.А., Степанян М.Л., Тумова В.А. и др. Функциональная активность тромбоцитов в ранние сроки формирования ангиопатии у крыс с аллоксановым диабетом // Пробл. эндокринологии. 1996. № 4. С. 34–37.
7. Галенюк В.А., Жук Е.А. Иммунологические аспекты патогенеза диабетических ангиопатий // Терапевт. архив. 1998. № 10. С. 5–9.
8. Шитикова А.С. // Лабор. дело. 1981. № 8. С. 451–459.
9. Brinkhaus, Evans, Austen. Определение фактора Виллебранда визуально, методика по Л.П. Папаян // Там же. 1982. № 5. С. 257.
10. Hladovec J., Rossmann P. Circulating endothelial cells isolated together with platelets and the experimental modification of their count in rats // Tromb. Res. 1973. Vol. 3. P. 663–674.
11. Da Prada M., Richards J. G., Kettler R. // Platelets in biology and pathology. Vol. 2 / Ed. J. L. Gordon. North Holland, 2001. P. 107.
12. Barry O. P., Fitts Gerald G. A. Mechanisms of cellular activation by platelet microparticles // Thromb. Haemost. 1999. Vol. 82. P. 794–800.
13. Barnes R. W., Wu K. K., Hoak J. C. Fallability of the clinical diagnosis of venous thrombosis // JAMA. 1975. Vol. 234. P. 605.

Статья принята к печати 19 декабря 2007 г.