3. *Gandullia E., Bonioli E., Montewerde R.* et al. // Pediat. Med. Chir. – 1986. – Vol. 8, N 5. – P. 687-689.

4. *Giordano C., Galluzzo A., Panto F.* et al. // Acta diabetol. lat. – 1987. – Vol. 24, N 4. – P. 317-323.

5. *Knip M., Ilonen J., Mustonen A., Akerblom H. K.* // Diabetologia. – 1986. – Vol. 29. – P. 347-351.

6. *Kolb H., Dannehl K., Gruneklec D.* et al. // Ibid. – 1988. – Vol. 31, N 4. – P. 189-194.

7. *Kusayanagi T.* // Nippon Ikadaigaku Zasshi. – 1989. – Vol. 56, N 2. – P. 103-122.

8. *Madsbad S., Lauritzen E., Faber O. K., Binder C.* // Diabet. Med. – 1986. – Vol. 3, N 1. – P. 42-45.

9. *Rjasanowski I., Michaelis D., Keilacker H.* et al. // Exp. clin. Endocr. – 1987. – Vol. 89, N 2. – P. 216-224.

10. *Sochett E. B., Daneman D., Clarson C., Ehrlich R. M.* // Diabetologia. – 1987. – Vol. 30. – P. 453-459.

11. *Ternaud C., Go V. L. W., Gerich J. E.* et al. // J. Pediat. – 1982. – Vol. 101, N 1. – P. 36-39.

12. *Wallensteen M., Dahlquist G., Persson B.* et al. // Diabetologia. – 1988. – Vol. 31, N 9. – P. 664-669.

Поступила 08.06.94

I. V. Osokina, L. N. Scherbacheva, N. V. Lebedev, I. M. Belovalova, A. P. Knyazeva, V. V. Yazdovsky, I. I. Dedov – ENDOGENOUS SECRETION OF INSULIN AND ITS RELATIONSHIP WITH IMMUNOGENETIC MARKERS IN INFANTS WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

Summary. The level of C-peptide is a marker determining the clinical course of insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). The factors influencing the volume of residual exogenous secretion of insulin in IDDM patients are not yet well known. In order to elucidate the effect of HLA-phenotype on the residual function of pancreatic beta-cells and the course of diabetes, 114 children, 55 boys and 59 girls aged 8 months to 6.5 years, suffering from IDDM, were examined. HLA phenotype was detected by the standard microlymphocytotoxic test. Fifty-nine HLA antigens of classes I and II, locuses A, B, DR, DQ were taken into consideration. Basal and radial C-peptide was assessed by radioimmunoassay. The pancreatic insulin-secretory function was found reduced in young patients with IDDM. The mean values of C-peptide were 0.13 ± 0.01 nmol/liter. Residual secretion of insulin was revealed in 56.2% of children. HLA markers of high risk of IDDM development in the first years of life were revealed: DQw3, DR3/4, DR4, DR3, B8 antigens. The markers of high risk of diabetes DR3 and DR4, and moreover, DR3/4, as well as the age by the disease onset and duration of IDDM were found to influence the size and duration of functioning of beta-cells.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.379-008.64-07:616.155.25-008.1

М. И. Балаболкин, А. А. Кубатиев, И. А. Рудько, Е. Н. Голега, Г. Н. Сушкевич

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Кафедра общей патологии и патофизиологии (зав. – проф. А. А. Кубатиев) Медицинской академии последипломного образования Минздравмедпрома РФ; кафедра эндокринологии (зав. – проф. М. И. Балаболкин) ММА им. И. М. Сеченова

Известно, что сахарный диабет (СД) довольно часто сопровождается сосудистыми осложнениями, которые приводят к утрате трудоспособности больных и представляют угрозу для их жизни. Развитию микро- и макроангиопатий способствует как поражение эндотелия сосудов, так и нарушение функции тромбоцитов. Многочисленные исследования [4, 6] свидетельствуют о том, что у больных СД I типа увеличен объем тромбоцитов, укорочена продолжительность их жизни, повышены адгезия, агрегация кровяных пластинок, наряду с усиленным тромбоцитарным синтезом продуктов арахидонового каскада, обладающих тромбогенной активностью.

До настоящего времени не решен вопрос, является ли изменение функции тромбоцитов следствием или причиной сосудистых осложнений при СД. При активации тромбоцитов наблюдается высвобождение вазоактивных веществ из их гранул, которые способны вызвать повреждение эндотелия.

Нарушение функции тромбоцитов у больных СД связывают с влиянием метаболических факторов [6, 14]. Показано, что нормализация уровня глюкозы в крови способствует восстановлению функциональной активности тромбоцитов [5, 7].

В настоящей работе мы решили изучить агрегационную способность тромбоцитов и реакцию выделения тромбоцитарных гранул у больных СД I типа в зависимости от наличия сосудистых осложнений и в процессе лечения их препаратами инсулина человека.

Материалы и методы

Обследовано 17 больных СД I типа в возрасте от 20 до 43 лет с длительностью основного заболевания до 1 года (3 больных), от 5 до 10 лет (5 больных), более 10 лет (9 больных). У 10 больных наблюдали развитие микро- и макроангиопатий, в том числе ретинопатии у 9, нефропатии у 4, ангиопатии нижних конечностей у 4. К моменту начала исследования 16 больных находились в состоянии субкомпенсации (уровень глюкозы в крови колебался от 8,3 до 11,1 ммоль/л), а 1 больной – в состоянии компенсации, вследствие лечения инсулинами короткого и пролонгированного действия (инсулрапом, актрапидом в комбинации с ИЦС, инсулонгом ленте).

12 больных были переведены на одновременное введение инсулинов короткого действия – Humuline S – и пролонгированного – Humuline I – фирмы "ЭЛИ ЛИЛЛИ" (США), а 5 человек – комбинированного инсулина – Humuline, профиль M3 той же фирмы.

Кровь для исследования брали из вены больных в 3,8% цитрате Na до перевода на новые инсулины, через 2, 6 и 12 нед терапии указанными инсулинами.

Агрегацию тромбоцитов и освобождение АТФ изучали методом G. Born в модификации O'Brien с графической регистрацией на люми-агрегометре PICA (Chrono-Log, Havertown, P. A., USA). В качестве индукторов агрегации использовали АДФ в конечной концентрации 5 и 1 мкМ ("Sigma"), адреналина гидрохлорид в конечной концентрации 1 мкМ ("Sigma"), коллаген в конечной концентрации 4 и 2 мкг/мл ("Chrono-Log").

В процессе колаген- и АДФ-индуцированной агрегации регистрировали выделение тромбоцитами АТФ на люминесцентном канале агрегометра при помощи люциферин-люциферазы (Chrono-Lume-reagent, Chrono-Log) и стандарта АТФ

Таблица 1

Изменение агрегации тромбоцитов (в %) у больных СД I типа в процессе лечения

Продолжительность лечения, нед	5 мкМ АДФ		1 мкМ АДФ		1 мкМ адреналина		4 мкг/мл коллагена		2 мкг/мл коллагена	
	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
2 нед	48,3 ± 4,9 (n = 13)	61,3 ± 1,9 (n = 4)	14,9 ± 2,0**	53,0 ± 5,5*	32,7 ± 5,4	55,7 ± 7,2	57,2 ± 3,3	63,0 ± 4,5	51,4 ± 4,2	66,0 ± 6,0
6 нед	64,2 ± 5,1 (n = 5)	53,9 ± 6,6 (n = 12)	29,3 ± 13,1	22,2 ± 6,4	42,0 ± 11,6	48,5 ± 6,4	70,2 ± 5,9**	64,1 ± 6,1	55,2 ± 8,6	66,9 ± 4,1*
12 нед	56,5 ± 15,5 (n = 2)	41,6 ± 6,0* (n = 15)	10,5 ± 1,5	31,7 ± 4,5*	20,5 ± 0,5*	40,8 ± 5,3	72,0 ± 9,0	50,8 ± 5,3	56,0 ± 19,0	54,3 ± 4,4
Доноры	56,5 ± 3,6		17,6 ± 3,7		35,7 ± 5,1		62,6 ± 2,9		55,8 ± 1,7	
До начала лечения:										
3-я группа	62,3 ± 4,4	-	49,8 ± 5,2*	-	54,2 ± 4,8*	-	58,2 ± 1,2	-	56,2 ± 4,0	-
4-я группа	45,3 ± 7,7	-	23,2 ± 5,4	-	39,3 ± 5,5	-	46,7 ± 7,7	-	35,0 ± 5,0	-

Примечание. Здесь и в табл. 2: приведены средние данные ($M \pm m$); 1-я группа — больные в состоянии субкомпенсации СД, 2-я группа — больные СД в состоянии компенсации, 3-я группа — больные СД с ангиопатиями, 4-я группа — больные с неосложненным СД. Достоверность различий показателей $p < 0,05$: одна звездочка — по сравнению с донорами, две — по сравнению с исходным уровнем.

той же фирмы. Амплитуду и максимальную скорость агрегации измеряли при помощи прибора Aggro-Link (Chrono-Log).

Статистическую обработку результатов проводили, используя метод Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Агрегация тромбоцитов, индуцированная 5 и 1 мкМ АДФ, 4 мкг/мл коллагена, 1 мкМ адреналина, не отличалась от донорской, но снижалась под воздействием 2 мкг/мл коллагена у больных, у которых отсутствовали сосудистые осложнения. В то же время у больных с выраженными микро- и макроангиопатиями наблюдалось повышение агрегации на малые концентрации АДФ и адреналина и отсутствие различий по сравнению со здоровыми лицами при действии 5 мкМ АДФ и коллагена. Амплитуда агрегации, индуцированной 1 мкМ АДФ, достоверно различалась ($p < 0,05$) у этих двух групп больных (табл. 1). Корреляция не выявлялась между агрегацией тромбоцитов, возрастом больных и длительностью СД. Однако наблюдалось повышение агрегации под воздействием 1 мкМ АДФ ($p < 0,01$) и незначительное снижение ее под воздействием 4 мкг/мл коллагена ($p > 0,05$) в субкомпенсированном состоянии больных.

В процессе лечения перечисленными препаратами инсулина отмечали тенденцию к повышению агрегации, индуцированной 5 мкМ АДФ и 4 мкг/мл коллагена, по сравнению с исходным уровнем и снижение ее под воздействием 1 мкМ АДФ наиболее отчетливо на 6-й неделе исследования. При этом через 6 нед от начала лечения агрегация тромбоцитов у больных СД не отличалась от донорской.

На 12-й неделе инсулинотерапии выявили снижение агрегации, индуцированной 5 мкМ АДФ, и повышение ее под влиянием 1 мкМ АДФ по сравнению со здоровыми лицами. Различий в изменении агрегации тромбоцитов на разные индукторы в зависимости от вида вводимого инсулина не определялось, хотя на 6-й неделе у больных, лечившихся комбинированным инсулином, отмечалась тенденция к более выраженному снижению агрегации, индуцированной 1 мкМ АДФ ($p = 0,08$).

В процессе коллаген- и АДФ-индуцированной агрегации регистрировали достоверное снижение ($p < 0,05$) количества высвобождаемого АТФ у больных без осложнений по сравнению с донорами. У больных с микро- и макроангиопатиями уровень высвобождаемого АТФ не отличался от донорского и превышал таковой при неосложненном СД (табл. 2). Количество АТФ, высвобождаемого в процессе агрегации тромбоцитов, не коррелировало с длительностью СД и достоверно снижалось у больных в субкомпенсированном состоянии по сравнению с донорами. На фоне терапии инсулинами наблюдали нормализацию уровня высвобождаемого АТФ. Уже на 2-й неделе от начала лечения уровень АТФ, высвобождаемого в процесе коллагениндуцированной агрегации, у больных в компенсированном состоянии достоверно превышал таковой у больных в состоянии субкомпенсации ($p < 0,01$) и не отличался от донорского. Через 12 нед терапии уровень АТФ у больных превышал таковой до терапии и соответствовал донорскому (см. табл. 2).

Несмотря на то, что в течение длительного времени известно об усиленной агрегационной способности тромбоцитов у больных СД, роль тромбоцитарного звена в патогенезе ангиопатий нуждается в уточнении. Многочисленные исследования разных авторов [1, 2] свидетельствуют о том, что агрегация тромбоцитов повышается у больных СД только при наличии у них ретинопатии, нефропатии или поражения коронарных сосудов. Мы также обнаружили увеличение

Таблица 2

Изменение количества АТФ, высвобождаемого в процессе агрегации тромбоцитов, у больных СД I типа на фоне лечения

Продолжительность лечения	Количество АТФ (в нМ на 10^{11} тромбоцитов), высвобождаемого в процессе агрегации, индуцированной			
	5 мкМ АДФ		4 мкг/мл коллагена	
	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
2 нед	578,0 ± 225,8	1452,2 ± 539,0	866,1 ± 150,9*	1904,7 ± 677,2**
6 нед	595,4 ± 129,6	1434,8 ± 297,0**	1862,6 ± 399,7**	1510,6 ± 391,7
12 нед	1600	1141,3 ± 144,8**	2600	1940 ± 296,4**
Доноры	801,6 ± 165,9		1784,9 ± 283,0	
До начала лечения:				
3-я группа	1231,5 ± 42,5*	-	1444 ± 75,3	-
4-я группа	529,5 ± 129,5	-	457,3 ± 124,1*	-

агрегации тромбоцитов под воздействием малых концентраций АДФ и адреналина и отсутствие изменений под влиянием 5 мкМ АДФ и коллагена у больных СД с ангиопатиями. Агрегационная способность тромбоцитов не отличалась от донорской у больных, у которых отсутствовали клинически выраженные сосудистые осложнения.

Полученные нами результаты подтверждают данные других исследователей [6, 7], отмечавших повышение агрегации тромбоцитов под влиянием низких концентраций АДФ, арахидоновой кислоты у больных СД при наличии микро- и макроангиопатий и отсутствие нарушений функции кровяных пластинок у больных без осложнений [8].

В то же время наряду с измененной агрегационной активностью тромбоцитов мы выявили снижение количества высвобождаемого АТФ в процессе АДФ- и коллагениндуцированной агрегации по сравнению с донорским у больных СД независимо от наличия сосудистых осложнений. При этом более низкий уровень АТФ наблюдался у больных без ангиопатий.

На наш взгляд, полученные нами данные свидетельствуют о гиперактивации тромбоцитов и опустошении гранул кровяных пластинок при неосложненном СД, чем, вероятно, обусловлено отсутствие повышенной агрегации в плазме, богатой тромбоцитами у данной категории больных. R. Jones и соавт. [8] выявили усиление коллаген- (1мг/л) и арахидонатиндуцированной агрегации тромбоцитов в цельной крови больных с неосложненным СД, но не отмечали никаких различий в агрегации у больных по сравнению с донорами при использовании больших концентраций коллагена (5 мг/л). Повышенная активация тромбоцитов в кровотоке у больных СД, по мнению ряда авторов [10, 11], обусловлена влиянием АДФ, высвобождающегося из эритроцитов.

Результаты наших исследований соответствуют данным других авторов, отмечавших высокий уровень β-тромбоглобулина и 4-го фактора тромбоцитов (показателей дегрануляции тромбоцитов) в плазме крови не только у больных с ретинопатией [1, 2], но и у больных без сосудистых осложнений [6, 12] по сравнению с донорами.

Механизмы нарушения функции тромбоцитов при СД остаются до конца неизученными. В то же время, в качестве основных факторов, способствующих изменению тромбоцитов при СД, рассматривают инсулин и глюкозу, последнюю благодаря вызываемому гликозилированию белков тромбоцитарных и эритроцитарных мембран [13]. Повышенное гликозилирование тромбоцитарных белков отмечали у больных СД I типа в состоянии декомпенсации [13].

Восстановление функциональной активности тромбоцитов при СД связывают с нормализацией уровня глюкозы в крови, наблюдающейся на фоне инсулинотерапии [14]. Результаты работ разных авторов [14] свидетельствуют о снижении агрегации тромбоцитов на АДФ, ристоцетин, коллаген и исчезновении тромбоцитарных агрегатов в крови больных СД при введении инсулина. При лечении данными инсулинами мы наблюдали восстановление функциональной активности тромбоцитов до донорского уровня через 6 нед от начала терапии независимо от вида применяемых инсулинов.

Ранее M. Trovati и соавт. [13] продемонстрировали снижение на фоне инсулинотерапии агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ, тромбоцитактивирующим фактором, адреналином, коллагеном, арахидоновой кислотой в дозо- и времязависимых реакциях. Ингибирующее действие инсулина опосредуется, по их мнению, не через нарушение синтеза цАМФ или же тромбоксана A_2, а благодаря изменению свойств мембраны тромбоцитов. Авторы полагают, что повреждение функции тромбоцитов при СД вызвано недостаточностью инсулина.

Таким образом, полученные нами данные не оставляют сомнений в том, что повышенная активация тромбоцитов сопровождает развитие микро- и макроангиопатий у больных с неосложненным СД. Улучшение течения диабета, наблюдаемое под влиянием инсулинотерапии, восстанавливает нарушенную функцию тромбоцитов у данной категории больных.

Выводы

1. Развитие микро- и макроангиопатий у больных с неосложненным СД сопровождается повышенной активацией тромбоцитов.

2. Компенсация диабета инсулинами человека восстанавливает нарушенную функцию тромбоцитов у больных СД.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Dallinger K. J. C., Jennings P. E., Toop M. J.* et al. // Diabet. Med. – 1987. – Vol. 4. – P. 44-48.

2. *Fristchi J., Christe M., Lammle H.* et al. // Thromb. Haemostas. – 1984. – Vol. 52, N 3. – P. 236-239.

3. *Gistinger C. H., Schernthaner G.* // Diabet. Res. – 1986. – Vol. 3. – P. 401-405.
4. *Gistinger C., Watanabe J., Colwell J. A.* // Prostagl. Leuk. Essentl. Fatty Acids. – 1990. – Vol. 40. – P. 169-176.
5. *Guigliano D., Musso L., Tirelli A.* et al. // Diabetologia. – 1982. – Vol. 23. – P. 545.
6. *Hendra T., Betteridge D. S.* // Prostagl. Leuk. Essentl. Fatty Acids. – 1989. – Vol. 35. – P. 197-212.
7. *Hiramatsy K., Nozaki H., Arimori S.* // Diabetologia. – 1987. – Vol. 30. – P. 310-313.
8. *Jones R. J., Delamothe A. P., Curtis L. D.* et al. // Diabet. Med. – 1985. – Vol. 2. – P. 105-109.
9. *Kubisz P., Arabi A., Holan J., Cronberg S.* // Haemostasis. – 1984. – Vol. 14. – P. 347-353.
10. *Loesche W., May J., Heptinstall S., Till U.* // Stud. biophys. – 1990. – Vol. 134. – P. 87-90.
11. *May J., Loesche W., Heptinstall S.* // Thromb. Res. – 1990. – Vol. 59. – P. 489-495.
12. *Sampietro T., Lenzi S., Cechetti P.* et al. // Clin. Chem. – 1986. – Vol. 32. – P. 1328-1331.
13. *Trovati M., Anfossi G., Cavalot F.* et al. // Diabetes. – 1988. – Vol. 37. – P. 780-786.
14. *Watanabe J., Wohltmann H. J., Klein R. L.* et al. // Diabetes. – 1988. – Vol. 37. – P. 1652.

Поступила 22.11.93

M. I. Balabolkin, A. A. Kubatiyev, I. A. Rudko, Ye.N. Golega, G. N. Sushkevich – PLATELET FUNCTIONAL ACTIVITY IN PATIENTS WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

Summary. Platent aggregability and the reaction of isolation of thrombocytic granules were studied in 17 patients with type I diabetes mellitus with and without vascular involvement over the course of therapy with human insulin preparations (Lilly, France). Platelet aggregation in response to low concentrations of ADP and adrenalin was found increased; in patients with angiopathies no changes were induced by 5 mcM of ADP and collagen. In the patients without vascular involvement platelet aggregation was the same as in donors. The content of ATP released in the course of ADP or collagen-included aggregation reduced in the diabetics in comparison with donors irrespective of the presence of vascular complications, the lower level of ATP observed, however, in the patients without angiopathies. Our data indicate platelet hyperactivation and devastation of platelet granules in uncomplicated diabetes mellitus. Therapy with Lilly insulins was conducive to recovery of the functional activity of platelets which normalized 6 weeks after therapy was started, no matter what types of insulin were administered. The detected changes seem to be largely due to the effects of insulins proper but not so much to the compensation of glucose level, because they were unidirectional in the groups of patients with subcompensated and compensated diabetes.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 1995

УДК 616.441-002-092:612.017.1]-07

Е. Е. Потемкина, Д. С. Рафибеков, Е. Е. Фомина, Н. В. Пешева, А. П. Калинин

ГУМОРАЛЬНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ИММУННЫЕ ФАКТОРЫ ПРИ АУТОИММУННОМ ТИРЕОИДИТЕ

МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Кыргызский медицинский институт, Бишкек

В последнее десятилетие продолжались интенсивные углубленные исследования аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ), результаты которых обобщены в ряде фундаментальных обзоров [4, 9, 12]. Установлена ведущая роль иммунной системы (ИС) в развитии аутоагрессивных процессов в ЩЖ.

Достижения современной клинической иммунологии позволяют с достаточно высокой точностью определить уровень, глубину и характер дисбаланса иммунорегуляторных факторов, уточнить иммунопатогенетические механизмы "формирования" аутоиммунитета и открывают возможности использования направленного иммуномодулирования. В то же время трудности диагностики и лечения аутоиммунного тиреоидита (АИТ) связаны именно с необходимостью комплексной оценки важнейших регулирующих систем (включая иммунную), которая не всегда возможна даже в крупных диагностических центрах. С другой стороны, уже накопленные фактические данные требуют соответствующего обобщения и прежде всего установления клинической значимости иммунологических тестов, интегрально отражающих происходящие в ЩЖ процессы. Также необходима целенаправленная разработка показаний и противопоказаний к использованию иммунотропных препаратов.

Целью настоящего исследования явилось установление изменений в состоянии гуморальных и клеточных иммунных факторов у больных АИТ в связи с функциональным состоянием ЩЖ.

Материалы и методы

Иммунологическая характеристика проведена у 102 больных АИТ. Возраст больных колебался от 16 до 74 лет. У 43 больных отмечался эутиреоз (1-я группа), у 18 – компенсированный (2-я группа) и у 41 – декомпенсированный (3-я группа) гипотиреоз. Диагноз верифицирован на основании клинических данных, результатов гистологических исследований тиреоидной ткани у ранее оперированных больных и/или цитологического исследования биоптата, полученного при тонкоигольной пункционной аспирационной биопсии, сканирования, ультразвукового исследования, определения уровня тиреоидных гормонов и ТТГ. Окончательный диагноз устанавливался с учетом иммунологических данных.

Оценка состояния ИС проводилась по 16 параметрам, отражающим состояние гуморального, клеточного и фагоцитарного звеньев иммунитета. При "формировании" клинико-иммунологического диагноза учитывали как количественные, так и качественные (функциональные) характеристики, основанные на комплексной оценке иммунорегулирующих систем. Интерпретация полученных результатов осуществлялась с учетом данных аналогичного обследования 35 доноров. Тестирование проводилось в соответствии с рекомендациями Института иммунологии Минздравмедпрома РФ и кафедры иммунологии Российского государственного медицинского университета [5, 6]. Уровень трийодтиронина (T_3), тироксина (T_4), ТТГ определяли с использованием радиоиммунологического метода.

Содержание иммуноглобулинов классов A, M, G определяли с помощью радиальной иммунодиффузии (РИД) [2], а учет реакции и построение калибровочной кривой осуществляли на ПЭВМ с использованием специальной программы РИД. Компоненты комплемента и C1-ингибитор определяли в РИД с применением моноспецифических антисывороток про-