

## **СОСУДИСТО-ТРОМБОЦИТАРНЫЙ ГЕМОСТАЗ ПРИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ У ДЕТЕЙ**

Ларюшкина Р.М., Рывкин А.И., Линькова Ю.А., Глазова Т.Г., Томилова И.К.,  
Кадыкова Е.Л., Диндяев С.В.  
ГОУ ВПО ИвГМА Росздрава  
Кафедра педиатрии ФДППО

**РЕЗЮМЕ** У 70 детей, страдающих бронхиальной астмой, в различные периоды патологического процесса изучено состояние сосудистого (количество десквамированных эндотелиоцитов) и тромбоцитарного звеньев гемостаза (морфометрические характеристики: средний объем, тромбокрит, анизоцитоз, и функциональные: адгезивно-агрегационная активность, концентрация серотонина, катехоламинов, малонилдиальдегида, нитрат-ионов, холестерина, общих фосфолипидов); контрольную группу составили 10 здоровых детей. В ходе исследования выявлены отклонения функциональных характеристик кровяных пластинок и антитромбогенного потенциала, детерминированные периодом и степенью тяжести бронхиальной астмы. Конкретизация сведений о патогенетической значимости изменений отдельных компонентов сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза является предпосылкой к созданию научно обоснованных методов их коррекции у детей с бронхиальной астмой.

**Ключевые слова:** бронхиальная астма, дети, гемостаз.

Изучение гемостатических функций легких у больных бронхиальной астмой (БА) в настоящее время вызывает пристальный интерес. В этом аспекте особое внимание уделяется убедительным данным, свидетельствующим о непосредственном участии тромбоцитов в бронхоспазме атопического генеза [2, 3, 23].

Однако, несмотря на отмеченный интерес к данной проблеме, отсутствует комплексное изучение компонентов легочного «эндогенного фильтра» и функциональных свойств кровя-

ных пластинок во взаимосвязи с антитромбогенным потенциалом при БА у детей [8, 9]. Нет единого мнения о патогенетических механизмах персистенции хронического аллергического воспаления в бронхолегочной системе.

Целью настоящего исследования явилось установление особенностей изменений отдельных компонентов сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза у детей с БА, с тем чтобы

---

Lariushkina R.M., Ryvkin A.I., Linkova Yu.A., Glazova T.G., Tomilova I.K., Kadykova E.L., Dindyaev S.V.

### **VASCULAR-THROMBOCYTIC HEMOSTASIS IN CHILDREN WITH BRONCHIAL ASTHMA**

**ABSTRACT** Status of vascular link of hemostasis ( quantity of desquamative endothelocytes ) and that of thrombocytic link of hemostasis ( morphometric characteristics such as average volume, thrombocrit, anisocytosis and functional ones such as adhesive-aggregational activity, concentration of serotonin, catecholamines, malonyldialdehyde; nitrate ions, cholesterol, general phospholipids ) were studied in 70 children suffered from bronchial asthma in various stages of pathological process. Control group was composed of 10 healthy children. Deviations in functional characteristics of blood platelets and anti-thrombogenic potential, which were determined by stage and degree of bronchial asthma, were revealed. Data concrete definition of pathogenic significance of changes of separate components of vascular-thrombocytic link is the precondition for working out scientifically founded methods of their correction in children with bronchial asthma.

**Key words:** bronchial asthma, children, hemostasis.

обосновать их значимость в механизмах хронического аллергического воспаления и построения комплекса корригирующих мероприятий.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 70 детей с БА в возрасте от 4 до 15 лет (29 девочек и 41 мальчик): в приступный период — 42 больных, в клиническую ремиссию — 28. Тяжелое течение БА было отмечено у 9, среднетяжелое — у 54, легкое — у 7 пациентов (интермиттирующая астма — у 3 детей, персистирующая — у 4). Анализ распределения больных БА в зависимости от давности заболевания показал, что в среднем половина детей имела «стаж» заболевания более 5 лет (48,8%), почти четверть пациентов (25,60%) болеют БА в течение 1—2 лет, у стольких же больных (25,60%) длительность заболевания составила 3—4 года. В качестве причинных факторов сенсibilизации наиболее часто выступали бытовые (у 40%) и эпидермальные (у 46%) аллергены, нередко документировалась пыльцевая аллергия (у 12,8%).

Контрольную группу составили 10 здоровых детей того же возрастного диапазона.

Исследование тромбоцитарного компонента гемостаза проводили на автоматическом гематологическом анализаторе «Cobas Vega» фирмы «Roche-ABX», регистрировались следующие характеристики: количество клеток, подсчитанных в единице объема крови, средний объем (MPV), тромбоцит (PCT), анизцитоз (RDW).

Адгезивно-агрегационную активность тромбоцитов изучали качественным экспресс-методом визуальной оценки на предметном стекле с ристомицином по А.С. Шитиковой [13].

Функциональные характеристики кровяных пластинок оценивали по внутриклеточному уровню нитрат-ионов методом Д. Скуп, Д. Уэст [18], содержанию общих фосфолипидов (ОФЛ) и холестерина (ХС) методом тонкослойной хроматографии на пластинах «Сорбтон» [15], также интенсивности перекисного окисления липидов в их мембранах [22], концентрации в них биологически активных веществ (серотонина и катехоламинов) — методом Фальке-Хилларпа модификации Е.М. Крохиной [11] с учетом принципов флуориметрии (Виноградов С.Ю., Диндяев С.В. [6]).

Количество десквамированных эндотелиальных клеток определяли по методу J. Hladover [21].

Мукоцилиарный клиренс изучался методом А.С. Власовой [7]. Влаготыделительную функцию легких оценивали методом О.Я. Яковлевой [20].

Оценка функции внешнего дыхания осуществлялась по компьютерной спирометрии на приборе «SPIROSIFT—3000» (Fucumed, Япония).

Показатели газового состава и кислотно-основного состояния капиллярной крови исследовали на аппарате «RADIOMETER ABL—50» (Дания).

При проведении исследования соблюдались следующие условия: получение крови в силиконовую пробирку, стабилизация крови раствором цитрата натрия, интервалы времени между получением крови и ее исследованием — 30—60 мин.

Статистическая обработка данных проводилась методом вариационной статистики с применением t-критерия Стьюдента. Для выяснения степени взаимосвязи между изучаемыми показателями определялись коэффициенты парной корреляции.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного исследования у больных детей нами зарегистрированы отклонения качественно-количественных и функциональных свойств тромбоцитов и увеличение степени дезэндотелизации сосудов, детерминированные периодом и степенью тяжести заболевания.

При обострении БА имела тенденция к увеличению среднего объема тромбоцитов и коэффициента вариации тромбоцитометрической кривой ( $0,22 \pm 0,04\%$ ), уменьшению тромбокрита ( $15,79 \pm 0,03\%$ ).

Установлено, что в приступный период БА пул изучаемых клеток находится в состоянии физиологической и метаболической активации, о чем свидетельствовало уменьшение времени агрегации —  $3,57 \pm 0,2$  с, возрастание в них уровня малонового диальдегида (МДА) —  $2,67 \pm 0,04$  нмоль/мл (рис. 1) и нитрат-ионов —  $1,19 \pm 0,05$  ммоль/л (рис. 2) в сравнении с контролем ( $6,3 \pm 0,04$  с,  $1,59 \pm 0,03$  нмоль/мл и  $0,3 \pm 0,2$  ммоль/л соответственно). В эту фазу заболевания также достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличивалось содержание в кровяных пластинках серотонина до  $3,2 \pm 0,06$  усл. ед. и катехоламинов до

$2,7 \pm 0,05$  усл. ед. (рис. 2), превышавшее контрольные значения почти в 3 раза ( $1,0 \pm 0,04$  и  $1,27 \pm 0,04$  усл. ед. соответственно).

Выявленное усиление липоперекисных процессов, по всей вероятности, является одним из механизмов нарушения ультраструктурной организации мембран тромбоцитов, что через увеличенную захватывающую способность этих клеток по отношению к биологически активным веществам опосредованно приводит к активации агрегации кровяных пластинок и увеличению их прокоагулянтных свойств [4].

В свою очередь, ускоренная агрегация изучаемых клеток и развивающаяся при этом реакция высвобождения из тромбоцитов биоаминов, являющихся вазоконстрикторами, приводит к развитию ангиоспазма, повышению внутрисосудистой проницаемости и по принципу положительной связи потенцирует отклонение эндотелиального гемостатического баланса [1, 14]. Это суждение подтверждается выявленным в этот период БА повреждением интимы сосудов в виде достоверного увеличения количества десквамированных эндотелиоцитов ( $19,8 \pm 0,6 \cdot 10^4/\text{л}$ ), в сравнении со здоровыми детьми ( $5,1 \pm 0,01 \cdot 10^4/\text{л}$ ).

С другой стороны, при увеличении степени десквамации эндотелия повышается синтез части факторов гемостаза эндотелиальными клетками, что способствует усилению адгезии тромбоцитов, обусловленной притягиванием отрицательно заряженных кровяных пластинок к поврежденной стенке сосудов [1].

В острую фазу заболевания регистрируются отклонения и мембранной пластичности тромбоцитов, о чем косвенно свидетельствует увеличение уровня холестерина ( $70,91 \pm 0,2\%$ ) и коэффициента ХС/ОФЛ и уменьшение ОФЛ ( $29,09 \pm 0,3\%$ ). Повышение мембранной микровязкости изучаемых клеток нарушает, по всей видимости, функционирование их ферментных систем, изменяет активность поверхностных рецепторов [5].

Необходимо отметить, что выраженность и направленность изучаемых показателей находилась в прямой зависимости от тяжести БА. Так, наибольшая степень активации тромбоцитарного звена гемостаза зарегистрирована при тяжелом варианте заболевания:

время агрегации —  $2,5 \pm 0,2$  с,  
 $\text{NO}_3$  —  $1,7 \pm 0,3$  ммоль/л,  
 МДА —  $3,38 \pm 0,2$  нмоль/мл,  
 серотонин —  $3,9 \pm 0,02$  усл. ед.,  
 катехоламины —  $3,1 \pm 0,05$  усл. ед.

и среднетяжелом:

время агрегации —  $3,45 \pm 0,05$  с,  
 $\text{NO}_3$  —  $11 \pm 0,4$  ммоль/л,  
 МДА —  $2,51 \pm 0,0$  нмоль/мл,  
 серотонин —  $3,2 \pm 0,06$  усл. ед.,  
 катехоламины —  $3,24 \pm 0,03$  усл. ед.,

в сравнении с легким:

время агрегации —  $4,75 \pm 0,3$  с,  
 $\text{NO}_3$  —  $0,77 \pm 0,25$  ммоль/л,  
 МДА —  $1,95 \pm 0,04$  нмоль/мл,  
 серотонин —  $2,52 \pm 0,1$  усл. ед.,  
 катехоламины —  $1,3 \pm 0,08$  усл. ед.

Выявленное увеличение внутриклеточного содержания нитрат-ионов, по всей видимости, свидетельствует о том, что образуемый кровяными пластинками оксид азота, являющийся очень короткоживущей молекулой, подвергается окислению с переходом в нитраты в большей степени при тяжелой и среднетяжелой БА. Это может свидетельствовать о степени вовлеченности  $\text{NO}_3$  в процессы регуляции активности аллергического воспаления, сопровождающегося увеличенной проницаемостью сосудистой стенки, которая, в свою очередь, зависит от метаболической активности тромбоцитов.

Подобная же направленность изменений была выявлена и при анализе антитромбогенного потенциала (количество десквамированных эндотелиоцитов при тяжелом варианте —  $27,0 \pm 0,2 \cdot 10^4/\text{л}$ , среднетяжелом —  $21,7 \pm 0,5 \cdot 10^4/\text{л}$ , легком —  $10,8 \pm 0,01 \cdot 10^4/\text{л}$ ).

Последнее свидетельствует о том, что вследствие влияния таких факторов, как гипоксия, повышение содержания различных биологически активных веществ, складываются «благоприятные» условия для развития эндотелиальной дисфункции. Результатом воздействия оксида азота непосредственно на гладкомышечную клетку в месте повреждения эндотелия является вазоконстрикция, что прямо противоположно его физиологическому эффекту [17]. Последнее, в свою очередь, усугубляет гемостазиологическую дисфункцию эндотелиальной выстилки сосудов, что говорит о тесной взаимосвязи функционального состояния тромбоцитов и эндотелия [10]. Итак, в острую фазу заболевания выявлены отклонения параметров сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, характеризующиеся ослаблением антитромбогенного потенциала, усилением необратимой агрегации кровяных пластинок, процессов липопероксидации, повышением внутриклеточного содержания биоаминов, нитрат-ионов и увеличением жестко-

сти цитомембран тромбоцитов, что косвенно отражает повышение коагуляционных свойств крови.

Зарегистрированная физиологическая и метаболическая активация кровяных пластинок, вероятно, обуславливает персистирующее образование тромбоцитарных агрегатов, выделение биологически активных веществ (БАВ), что способствует усилению проницаемости сосудистой стенки, нарушению эндотелиальной выстилки и воспалительному obstructivному синдрому. Возможно также, что в результате микроэмболизации сосудов агрегатами тромбоцитов и возникающего вазоспазма, вследствие высвобождения из тромбоцитов серотонина и катехоламинов, в участках легких со сниженным кровотоком возникает бронхоконстрикция и уменьшение вентиляции [12].

В период клинической ремиссии БА сохранялись отклонения первичного звена гемостаза, но степень их выраженности была меньшей по сравнению с острой фазой заболевания (рис. 1). Так, время агрегации кровяных пластинок составило  $6,48 \pm 0,2$  с, что во 1,8 раза превышает значения приступного периода. Кроме этого, выявлялось снижение среднего объема тромбоцитов до  $8,01 \pm 0,2$ , коэффициента вариации тромбоцитометрической кривой, увеличения тромбокрита ( $0,28 \pm 0,04\%$ ).

Следует отметить, что параллельно выявленным адгезивно-агрегационным изменениям тромбоцитов и антитромбогенного потенциала в эту фазу заболевания удерживались и отклонения функциональных характеристик кровяных пластинок (рис. 1, 2), о чем свидетельствовало сохраняющееся накопление продуктов липопероксидации (МДА —  $2,23 \pm 0,02$  нмоль/мл), окислительного метаболита оксида азота ( $\text{NO}_3$  —  $0,42 \pm 0,2$  ммоль/л) и изменения липидного бислоя кровяных пластинок (ХС —  $66,5 \pm 0,3\%$ , ОФЛ —  $33,5 \pm 0,4\%$ ).

Уменьшение накопления МДА в изучаемых клетках в постприступный период БА, рассматриваемое как косвенный признак образования в тромбоцитах тромбоксана  $A_2$ , улучшение липидного состава свидетельствуют, скорее всего, о снижении выраженности дестабилизирующих метаболизм цитомембранных процессов в кровяных пластинках, что, в свою очередь, ведет к уменьшению интенсификации коагуляционного гемостаза через менее активированные тромбоциты.

Снижение внутриклеточного уровня  $\text{NO}_3$  является, вероятно, результатом уменьшения синтеза индуцибельной  $\text{NO}$ -синтазы кровяных пластинок за счет регресса активности иммуногенных провоспалительных стимулов в сочетании с падением захватывающей способности тромбоцитов по отношению к оксиду азота [17] и указывает на увеличение выраженности антитромбогенного потенциала.

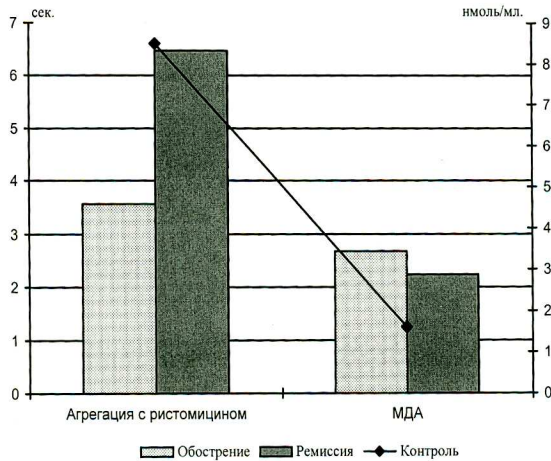
В эту фазу заболевания отмечено также снижение повреждающего действия биоаминов на легочный эндотелий [19], что косвенно подтверждалось уменьшением уровня БАВ (рис. 2) в изучаемых клетках (серотонин —  $2,47 \pm 0,1$  усл. ед., катехоламины —  $1,8 \pm 0,03$  усл. ед.).

В постприступный период сохранялась и эндотелиальная дисфункция, о чем свидетельствовало не достигнутое уровня контроля количество циркулирующих эндотелиоцитов ( $16,6 \pm 0,01 \cdot 10^4/\text{л}$ ).

Снижение уровня десквамации эндотелия в эту фазу заболевания, вероятно, говорит об уменьшении выраженности иммуноопосредованных механизмов эндотелиальной дисфункции и увеличении тромборезистентности сосудистой стенки [16].

Итак, в период клинической ремиссии выявлено уменьшение выраженности эндотелиальной дисфункции и снижение прокоагулянтной активности тромбоцитов, о чем свидетельствовало улучшение их качественных и функциональных характеристик и что отражает уменьшение риска развития тромботических проявлений при хроническом аллергическом воспалении.

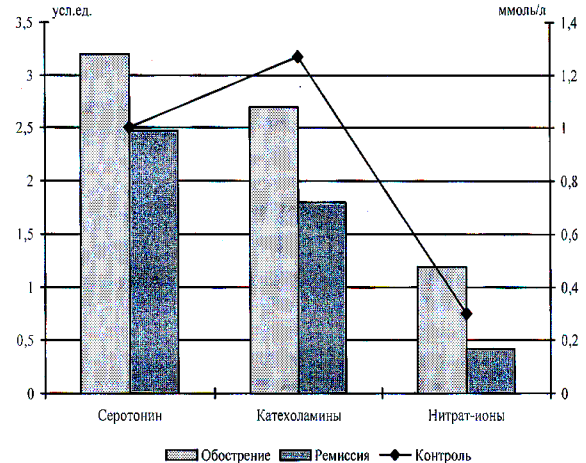
Таким образом, нами доказана связь антитромбогенного потенциала и микроцитарного гемостаза с периодом и степенью тяжести БА у детей. Мы полагаем, что артериальная гипоксемия, являющаяся результатом бронхиальной обструкции, приводит к обширному повреждению эндотелия легочных сосудов и сопровождается выделением целого ряда биологически активных субстанций, что наряду с компонентами иммунного воспаления является пусковым моментом в активации функций тромбоцитов. Они, в свою очередь, не только «запускают» внутрисосудистое свертывание, но и поддерживают воспалительные реакции в легких,



**Рис. 1.** Показатели агрегации кровяных пластинок и концентрации малонового диальдегида в тромбоцитах у здоровых и больных бронхиальной астмой детей в различные периоды заболевания

становясь непосредственным участником этого процесса.

Наличие положительных средней силы корреляционных взаимосвязей между показателями высокой метаболической активности пула тромбоцитов ( $r_1 = +0,7$ ;  $r_2 = +0,7$ ;  $r_3 = +0,75$ ;  $r_4 = +0,7$ ), уровнем десквамации эндотелия ( $r = +0,7$ ) и данными функции внешнего дыхания, отражающими обструктивные нарушения; респираторного влаговыведения, параметрами



**Рис. 2.** Уровень серотонина, катехоламинов и нитрат-ионов в тромбоцитах у здоровых и больных бронхиальной астмой детей в зависимости от периода заболевания

газового состава крови, уровнем метаболитов оксида азота свидетельствует о том, что выявленные нами отклонения сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза являются одним из патогенетических механизмов хронического воспаления в бронхолегочной системе. Это обосновывает поиск мер направленной терапевтической коррекции выявленных отклонений, поскольку, тромбоциты являются одним из первых звеньев активации коагуляционных процессов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов Н.И., Тлепуков И.К. Физиология системы гемостаза. — М., 1995. — 243 с.
2. Бронхиальная астма / Под ред. А.Г. Чучалина : В 2 т. — М. : Агар, 1997. — Т1. — 400 с.
3. Бронхиальная астма у детей / Под ред. С.Ю. Каганова. — М. : Медицина, 1999. — 368 с.
4. Бышевский А.Ш., Галян С.П., Дементьев Н.А., Нелаева А.А., Соловьев В.Г. Тромбоциты. — Тюмень, 1996. — 252 с.
5. Вельтищев Ю.Е., Капустян А.М. Проблемы патологии детского возраста в аспекте нарушения структуры и функции биологических мембран. — М., 1982. — 69 с.
6. Виноградов С.Ю., Диндяев С.В. Некоторые информативные и методические аспекты флюоресцентно-гистохимического анализа нейромедиаторных биоаминов. — Иваново, 1988. — Деп. в ВИНТИ, № 7876.
7. Власова А.С. Применение лекарственных веществ на основе крахмально-агарового геля в диагностике заболеваний легких : Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Иваново, 1991. — 22 с.
8. Даниляк И.К., Турсунов Х.Х., Смоляницкий А.Я., Торик Ж.Н. и др. Показатели прокоагулянтного звена системы гемостаза и фибринолиза у больных стероидозависимой бронхиальной астмой, осложненной геморрагическим синдромом // Терапевт. арх. — 1991. — № 3. — С. 78—81.
9. Домникова Н.П., Сидорова Л.Д., Логвиненко А.С., Архипов Б.В., Баркаган Л.З. Состояние тромбоцитарного звена гемостаза у больных инфекционно-зависимой бронхиальной астмой // Терапевт. арх. — 1989. — № 3. — С. 18—20.
10. Киричук В.Ф., Воскобой И.В. Антитромбогенная активность стенки сосудов, гемостаз и реологические свойства крови у больных нестабильной стенокардией с гиперпротеинемией различных типов // Терапевт. арх. — 2000. — № 12. — С. 47—50.

11. Крохина Е.М., Александров П.Н. Симпатический (адренергический) компонент эффекторной иннервации сердечной мышцы // Кардиология. — 1969. — № 3. — С. 97—102.
12. Петрищев Н.Н., Беркевич О.А., Власов Т.Д., Волкова Е.В., Зуева Е.Е., Мозговая Е.В. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиальных клеток в крови // Клин. и лаб. диагностика. — 2001. — №1. — С. 50.
13. Пособие по изучению адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов / А.Л. Берковский, С.А. Васильев, Л.В. Жердеева и др. — М., 1999. — 29 с.
14. Ребров А.Л., Кароли Н.А. Изменения функциональной активности тромбоцитов и антитромбогенной активности стенки сосудов у больных бронхиальной астмой на фоне терапии системными глюкокортикостероидами // Пульмонология. — 1999. — № 3. — С. 43—47.
15. Ростовцев В.Н., Резник Г.Е. Количественное определение липидных фракций плазмы крови // Лаб. дело. — 1982. — № 4. — С. 26 (218) — 29 (221).
16. Саложин К.В., Насонов Е.Л., Беленков Ю.Н. Роль эндотелиальной клетки в иммунопатологии // Терапевт. арх. — 1992. — № 3. — С. 150.
17. Сидоренко Б.А., Затеищikov Д.А. Дисфункция эндотелия в патогенезе атеросклероза и его осложнений // Кремлевская медицина. Клинический вестник. — 1999. — № 2. — С. 38—43.
18. Скуп Д., Уэст Д. Основы аналитической химии : Пер. с англ. — М. : Мир, 1979. — 223 с.
19. Сыромятникова Н.Б., Гончарова В.А., Котенко Т.В. Метаболическая активность легких. — Л. : Медицина, 1987. — 168 с.
20. Яковлева О.Я., Кучук А.П. Значение конденсата выдыхаемого воздуха в оценке влаговыведательной функции легких // Врачеб. дело. — 1987. — № 10. — С. 91—92.
21. Hladovec S. // *Physiol. Bohemoslov.* — 1978. — Vol. 27. — P. 140—144.
22. Yagi R., Omhawa H., Chishi N. // *Analyt. Biochem.* — 1979. — Vol. 95. — P. 351—358.
23. Weis H.J. Platelet physiology and abnormalities of platelet function // *N. Engl. J. Med.* — 1988. — № 293. — P. 531—537.

Поступила 16.11.2006 г.