



УДК 616.155.1-008.64:616.1-06

Н.О. Перцева

## Взаємозв'язок гіперглікемії з ендотеліальною функцією, функцією нирок, ліпідемічним профілем і морфологічними змінами формених елементів крові у хворих із недостатньою компенсацією цукрового діабету 2 типу з артеріальною гіпертензією

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

**Ключові слова:** цукровий діабет 2 типу, артеріальна гіпертензія, ендотеліальна дисфункція, тромбоцитарний гемостаз, взаємозв'язок.

Потребують з'ясування і розробки численні питання щодо зв'язків між ендотеліальною дисфункцією та морфологічним субстратом ушкодження гемостазу, що відбуваються під час розвитку цукрового діабету 2 типу в поєднанні з артеріальною гіпертензією. У 87 хворих цього контингенту з недостатньою компенсацією глікемії за допомогою клініко-лабораторних, морфологічних методів і кореляційного аналізу визначили зв'язки між ендотеліальною дисфункцією, ступенем ушкодження функції нирок, ліпідемічним профілем і морфологічними змінами судинно-тромбоцитарного гемостазу. Встановили, що за умов недостатнього глікемічного контролю на тлі значного посилення зв'язків між показниками ендотеліальної дисфункції й ушкодженої тромбоцитарної ланки гемостазу (до  $r=+0,95$ ) утворюються вірогідні кореляції ультраструктурних характеристик тромбоцитів із клініко-лабораторними ознаками нефропатичних і дисліпідемічних змін.

## Взаимосвязь гипергликемии с эндотелиальной функцией, функцией почек, липидемическим профилем и морфологическими изменениями форменных элементов крови у больных с недостаточной компенсацией сахарного диабета 2 типа с артериальной гипертензией

Н.О. Перцева

Требуют выяснения и дальнейшей разработки многочисленные вопросы о связях между эндотелиальной дисфункцией и морфологическим субстратом повреждения гемостаза, которые наблюдаются при развитии сахарного диабета 2 типа в сочетании с артериальной гипертензией. У 87 больных данного контингента с недостаточной компенсацией гликемии с помощью клинико-лабораторных, морфологических методов и корреляционного анализа были определены связи между эндотелиальной дисфункцией, степенью повреждения функции почек, липидемическим профилем и морфологическими изменениями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Установлено, что в условиях недостаточного гликемического контроля на фоне значительного усиления связей между показателями эндотелиальной дисфункции и поврежденного тромбоцитарного звена гемостаза (до  $r=+0,95$ ) формируются достоверные корреляции ультраструктурных характеристик тромбоцитов с клинико-лабораторными признаками нефропатических и дислипидемических изменений.

**Ключевые слова:** диабет сахарный, тип 2, гипертензия, эндотелий, гемостаз, тромбоцитоз.

*Запорожский медицинский журнал. – 2014. – №6 (87). – С. 11–17*

## Relationship of hyperglycemia with endothelial function, renal function, lipidemic profile, and morphological changes of blood cells in patients with insufficient compensation of type 2 diabetes mellitus with hypertension

N.O. Pertseva

**Aim.** Many questions about the relationship between endothelial dysfunction and morphological substrate of hemostasis damage that occur during the progress of type 2 diabetes mellitus and arterial hypertension require clarification and further advance. **Methods and results.** In 87 patients with insufficient glycemic compensation associations between endothelial dysfunction, degree of renal function damage, lipidemic profile and morphological changes of vascular-platelet hemostasis were identified using clinical, laboratory, morphological methods and correlational analysis. **Conclusion.** It has been established that in the insufficient glycemic control against the background of significant strengthening relationships between indicators of endothelial dysfunction and damaged platelet hemostasis (up to  $r=+0.95$ ) significant correlations of ultrastructural characteristics of platelets with clinical and laboratory signs of nephropathic and dyslipidemic changes are formed.

**Key words:** Diabetes Mellitus Type 2, Arterial Hypertension, Endothelium, Thrombocytosis, Hemostasis.

*Zaporozhye medical journal 2014; №6 (87): 11–17*

За умов прогнозованого зростання числа хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу в поєднанні з артеріальною гіпертензією (АГ) пошук оптимальних методів контролю АГ та супутніх станів представляється особливо актуальним [1, 2]. У сучасних умовах профілактика мікро- і макросудинних ускладнень у цих хворих полягає в інтенсивній корекції багатьох розладів, найважливішими з них є дисфункція ендотелію [3, 4] та ушкодження судинно-тромбоцитарного гемостазу [5].

При ендотеліальній дисфункції, що характеризується порушенням усіх регуляторних властивостей стінки судин, знижується утворення NO, активується синтез і секреція ен-

дотеліну-1, збільшуються концентрації фактора Вілебранда, інгібітора активатора плазміногену-1 і тромбомодуліну, а також активуються процеси перекисного окислення ліпідів [6]. Важливу роль у патогенезі діабетичних порушень відіграють зміни системи гемостазу та порушення реологічних функцій – ендотелію судин, тромбоцитів, фібринолізу та гемокоагуляції [7]. Виразні гемореологічні дефекти визначаються вже на ранніх стадіях діабетичної ангіопатії та характеризуються підвищенням в'язкості крові, плазми та агрегаційної здатності еритроцитів і тромбоцитів, а також фібринолітичної активності плазми [8].

Гіперліпідемія й дисліпопротеїнемія погіршують реоло-



гічні властивості крові, що веде до вповільнення кровообігу і посилення агрегації тромбоцитів. Однією з патогенетичних ланок змін реологічного статусу крові є дестабілізація еритроцитів і тромбоцитів, що виникає при ЦД унаслідок неензиматичного глікування білків, ослаблення антиоксидантних систем та активації перекисного окислення в мембрані клітин [9]. Деендотелізація судин з оголенням базальної мембрани і нагромадження продуктів розпаду клітин, фібрину, еритроцитарних складів, продуктів гемолізу еритроцитарних речовин та інших факторів, що підвищують внутрішньосудинну агрегацію тромбоцитів, призводять до розвитку хронічного дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові та інших ускладнень [10, 11].

Сучасні уявлення про патогенез формування та розвиток ендотеліальної дисфункції мають фрагментарний характер і стосуються переважно впливу окремих факторів: гіперхолестеринемії, гіперглікемії, високої напруги гемодинамічного зсуву [8]. Крім того, відсутнє чітке уявлення про поєднаний вплив метаболічних і гемодинамічних факторів на функціональний стан ендотелію при ЦД 2 типу в поєднанні з АГ. Потребують з'ясування і розробки ті численні питання, котрі пов'язані з аналізом зв'язку між ендотеліальною дисфункцією та морфологічним субстратом ушкодження гемостазу, що відбуваються при розвитку цієї патології та її ускладнень.

#### Мета роботи

Визначення зв'язків між ендотеліальною дисфункцією, ступенем ушкодження функції нирок, ліпідемічним профілем і морфологічними змінами судинно-тромбоцитарного гемостазу у хворих із недостатньою компенсацією цукрового діабету 2 типу й артеріальною гіпертензією.

#### Матеріали і методи дослідження

Клініко-лабораторне і морфологічне дослідження проведено у 87 хворих із недостатньою компенсацією ЦД 2 типу (концентрація глікованого гемоглобіну від 7% до 8%) і гіпертонічною хворобою з АГ 1-3 ступенів (жінок – 73, чоловіків – 14). Верифікацію діагнозів здійснили згідно з наказами МОЗ України №436 від 03.07.2006 р. і №1118 від 21.12.2012 р. Пацієнтів поділили на основну групу (45 осіб, середній вік  $60,7 \pm 4,8$  року) і групу порівняння (42 особи, середній вік  $63,0 \pm 5,3$  року). В обох групах лікування АГ проводили із застосуванням тіазидоподібних діуретиків, інгібіторів ангіотензинперетворюючого фермента, блокаторів  $\beta$ -адренорецепторів, антагоністів кальцію, що призначалися індивідуалізовано в необхідних дозах. До основної групи увійшли пацієнти, в яких до антигіпертензивної терапії був залучений антагоніст рецепторів ангіотензину II лозартан (Лозап®, Zentiva). Групи хворих були співставними за віком, статтю, індексом маси тіла, тривалістю АГ і ЦД. У контрольній групі (28 волонтерів – практично здорових осіб) вік та індекс маси тіла також не відрізнялися статистично вагомо від показників у хворих досліджуваних клінічних груп. Усі дослідження здійснили у відповідності з етичними принципами Гельсінської декларації та з дозволу комісії з біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

Крім загальноклінічного обстеження і визначення рівня глікованого гемоглобіну (HbA1c), досліджували такі спеціальні клініко-лабораторні параметри: концентрації маркерів ендотеліальної дисфункції (ендотеліну-1, фактора Вілебранда і тромбомодуліну); наявність мікроальбумінурії (МАУ); швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ); рівні сечовини і креатиніну; концентрації загального холестерину, холестерину ліпопротеїдів високої і низької щільності (ЛПВЩ і ЛПНЩ), а також тригліцеридів. Клініко-лабораторні дослідження проводили у відповідності з рекомендаціями фірм-виробників діагностичних тест-систем на основі сучасних принципів лабораторних технологій [12]. ШКФ розраховували за формулою MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study). Імуноферментний аналіз маркерів ендотеліальної дисфункції здійснили на базі діагностичного центру ТОВ «Аптеки медичної академії» (м.Дніпропетровськ) за допомогою наборів реактивів виробництва «Technoclone GmbH» і «Biomedica Medizinprodukte» (Австрія).

Для ультраструктурного аналізу тромбоцитів фракцію збагаченої тромбоцитами плазми використовували для подальшого дослідження у відповідності з рекомендаціями [13]. Для виготовлення епоксидних блоків використовували композицію епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікроскопі УМТП-6М («SELMI», Україна). Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMI», Україна) при напрузі прискорення 65-90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 80000. У цілому електронномікроскопічне дослідження відбувалося за стандартною схемою [14], а вивчення поверхневої цитоархітеконики еритроцитів і тромбоцитів венозної крові – за допомогою мікроскопа Люмам И-2 («ЛОМО», Російська Федерація) в режимі фазового контрасту з використанням пристрою КФ-5. Морфологічне типування формених елементів крові здійснювали за рекомендаціями [15].

Статистичну обробку результатів виконували з використанням пакетів ліцензійних програм Statistica 6.1 і SPSS 13.0. Визначення вірогідності розходжень між вибірками зробили з урахуванням парного t-критерію Стьюдента, а також непараметричного критерію Вілкоксона у разі відсутності нормального статистичного розподілу. Оцінювання відповідності розподілу величин нормальному (Гауса) здійснили за допомогою визначення коефіцієнтів ексцесу та асиметрії з використанням відповідних таблиць. Визначення необхідного об'єму вибірки по групах дослідження встановлювали за формулою [16]:

$$n = \frac{t^2 s_x^2}{\Delta^2}$$

де n – чисельність вибірки; t – нормоване відхилення, з яким пов'язаний той чи інший рівень значущості;  $s_x$  – вибіркова дисперсія;  $\Delta$  – величина, що визначає межі довірчого інтервалу.

Парний кореляційний аналіз здійснили на основі обчислення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (нормальний розподіл) або коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (асиметричний розподіл) із визначенням надалі ступеня його статистичної значущості [16].



### Результати та їх обговорення

Визначення клініко-лабораторних параметрів у хворих із недостатньою компенсацією ЦД 2 типу і АГ показало: концентрація НbA1c у цих пацієнтів коливалась у межах від 7% до 8% і вірогідно перевищувала середній рівень групи контролю на 63,8% (група порівняння) і на 66,4% (основна група), що відповідало критеріям недостатньої компенсації гіперглікемії. Антигіпертензивна дія попередньої терапії дала змогу досягти цільових значень артеріального тиску (АТ) (нижче за 130/80 мм.рт.ст.) у 56 (64,4%) хворих із 87 пацієнтів цього контингенту, що суттєво не розрізнялось між досліджуваними клінічними групами. При цьому рівні САТ (на відміну від ДАТ) позитивно корелювали з концентрацією глікованого гемоглобіну ( $r=+0,58$ ;  $p<0,05$ ). Передовсім уміст НbA1c знаходився в щільному прямому зв'язку з показниками ендотеліальної функції, рівнем альбумінурії, концентраціями загального холестерину і ЛПНЩ, а також ступенем гіпертригліцеридемії.

У хворих основної клінічної групи виявлялися різко підвищені рівні ендотеліну-1 (у 11,2 раза), фактора Вілебранда (у 3,9 раза) і тромбомодуліну (у 3,1 раза) стосовно значень групи контролю. Аналогічні зміни спостерігалися у групі порівняння (табл. 1). Ступінь змін рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції в пацієнтів із недостатньою компенсацією гіперглікемії свідчив про залежність ушкодження ендотелію від концентрації глікованого гемоглобіну.

Таблиця 1

#### Стан клініко-лабораторних параметрів у контрольній групі та у хворих на ЦД 2 типу з недостатньою компенсацією і АГ, M ± m

Параметри	Група контролю	Група порівняння	Основна група
НbA1c (%)	4,61 ± 0,23	7,55 ± 0,38*	7,66 ± 0,29*
САТ (мм.рт.ст.)	122,5 ± 6,9	138,2 ± 8,7	138,4 ± 7,3
ДАТ (мм.рт.ст.)	75,2 ± 7,8	82,5 ± 6,0	79,8 ± 5,6
Ендотелін-1 (фмоль/мл)	0,19 ± 0,06	2,03 ± 0,44*	2,12 ± 0,56*
Фактор Вілебранда (од/мл)	0,63 ± 0,09	2,37 ± 0,23*	2,43 ± 0,30*
Тромбомодулін (нг/мл)	2,62 ± 0,48	8,14 ± 1,12*	8,23 ± 1,31*
Гемоглобін (г/л)	141,2 ± 12,7	140,5 ± 11,3	134,2 ± 8,5
Рівень альбумінурії (мг/л)	8,1 ± 1,3	29,7 ± 3,8*	29,5 ± 4,1*
ШКФ (мл/хв)	98,1 ± 10,8	83,1 ± 6,5	78,7 ± 7,8
Сечовина (ммоль/л)	5,62 ± 0,96	5,63 ± 0,83	6,07 ± 0,72
Креатинін (ммоль/л)	63,2 ± 8,8	79,4 ± 8,1	79,8 ± 8,7
Загальний холестерин (ммоль/л)	4,10 ± 0,62	5,62 ± 0,35	5,70 ± 0,66
ЛПВЩ (ммоль/л)	1,61 ± 0,35	1,11 ± 0,24	1,23 ± 0,30
ЛПНЩ (ммоль/л)	2,10 ± 0,41	3,44 ± 0,43*	3,54 ± 0,32*
Тригліцериди (ммоль/л)	1,39 ± 0,18	2,50 ± 0,36*	2,38 ± 0,29*

Примітка: \* – вірогідна відмінність від групи контролю ( $p<0,05$ ).

Крім того, означені маркери посилювали вірогідну кореляцію між собою, а також, на відміну від групи пацієнтів з якісною компенсацією гіперглікемії, встановлювали позитивний зв'язок зі значеннями артеріального тиску,

рівнем альбумінурії і показниками ліпідемічного профілю, що показує поглиблення взаємодії різних патогенетичних ланок розвитку хвороби у цього контингенту хворих за умов недостатньої компенсації гіперглікемії.

Клініко-лабораторні показники функції нирок у пацієнтів із ЦД 2 типу й АГ свідчили про помірні нефропатичні зміни у хворих і суттєво не розрізнялися між двома клінічними групами, що досліджувалися. МАУ спостерігалась у 45 (51,7%) пацієнтів. При цьому середній рівень альбумінурії у 3,7 раза (група порівняння) та у 3,6 раза (основна група) перевищував контрольні значення. Макроальбумінурія спостерігалась у 2 (2,3%) хворих. ШКФ коливалась у межах від 60 мл/хв до 89 мл/хв у розрахунку за формулою MDRD, тобто відповідала незначно зниженому рівню. Середні значення показника в обох клінічних групах не мали вірогідних відрізень від контрольної групи. Концентрації сечовини і креатиніну, широко варіюючи, у більшості хворих не перевищували верхньої межі референсного інтервалу і також суттєво не відрізнялися від контрольних значень (табл. 1).

Парний кореляційний аналіз виявив суттєві особливості у структурі зв'язків між показниками функції нирок та іншими досліджуваними параметрами, які виявлялися у хворих із недостатньою компенсацією гіперглікемії. Зокрема, між собою показники функції нирок встановлювали вірогідні кореляції в парах: МАУ і ШКФ ( $r=-0,57$ ), ШКФ і креатинін ( $r=-0,55$ ). Посилювалися зв'язки між МАУ і рівнем сечовини ( $r=+0,83$ ), між МАУ і концентрацією креатиніну ( $r=+0,69$ ). Також рівень альбумінурії утворював або посилював позитивний кореляційний зв'язок із концентрацією НbA1c, рівнем САТ, концентраціями всіх маркерів, котрі досліджувалися, ендотеліальної дисфункції.

Зважаючи на те, що альбумінурія перевищувала рівень 20 мг/л більш ніж у половини хворих цієї клінічної групи, посилення наявних і встановлення нових кореляційних зв'язків МАУ з означеними клініко-лабораторними параметрами свідчить про підвищення патогенетичної ролі МАУ в розвитку хвороби і, зокрема про зростання взаємозв'язку між рівнем альбумінурії і ступенем ушкодження ендотеліальної функції на тлі недостатньої компенсації гіперглікемії.

Визначення загального холестерину крові не виявило вірогідних відрізень у пацієнтів із ЦД 2 типу з недостатньою компенсацією й АГ від середніх значень контрольної групи, але у більшості обстежуваних спостерігалось перевищення цільових значень, передбачуваних рекомендаціями ESC (2007). Рівень холестерину ЛПНЩ був підвищеним на 63,8% ( $p<0,05$ ) – у хворих групи порівняння і на 68,6% ( $p<0,05$ ) у пацієнтів основної групи, тоді як концентрація холестерину ЛПВЩ залишалася без істотних змін стосовно групи контролю. У більшості хворих із недостатньою компенсацією ЦД 2 типу визначалась гіпертригліцеридемія. Середній рівень тригліцеридів у групі порівняння на 79,9% ( $p<0,05$ ) перевищував контрольні значення, в основній групі хворих – на 71,2% ( $p<0,05$ ).

За результатами кореляційного аналізу, всі показники ліпідемічного профілю встановлювали тісний зв'язок між собою. У хворих із недостатньою компенсацією гіперглікемії спостерігалися вірогідні позитивні кореляції рівня





загального холестерину з HbA1c ( $r=+0,69$ ), САТ ( $r=+0,49$ ), маркерами ендотеліальної дисфункції ( $r$  від  $+0,52$  до  $+0,68$ ), концентрацією сечовини крові ( $r=+0,48$ ) і ступенем МАУ ( $r=+0,51$ ). Аналогічні за структурою та інтенсивністю зв'язки виявлялися також при розрахунку кореляційної матриці по концентраціях холестерину ЛПНЩ і тригліцеридів. Наведені дані свідчать про зростання взаємної ініціалізації патогенетичних механізмів поглиблення дисліпидемії в пацієнтів цього контингенту за умов недостатньої компенсації гіперглікемії.

За допомогою трансмісійної електронної та фазово-контрастної мікроскопії у хворих на ЦД 2 типу з недостатньою компенсацією й АГ виявили значну активацію тромбоцитарної ланки гемостазу, ушкодження тинкторіальних властивостей еритроцитів із залученням до патологічного процесу лейкоцитів різних типів. Частка активованих тромбоцитів у цього контингенту хворих перевищувала рівень контрольної групи майже у 2,5 раза. Також різко підвищеним виявився рівень агрегованих і дегранульованих форм – до майже 3-разового переважання (табл. 2). Унаслідок цього вміст неактивованих тромбоцитів крові пацієнтів у групі порівняння поступався контрольному показнику на 46,5% ( $p<0,05$ ), в основній групі – на 45,2% ( $p<0,05$ ).

Таблиця 2

**Стан морфологічних параметрів крові в контрольній групі та у хворих на ЦД 2 типу з недостатньою компенсацією і АГ, М ± m**

Параметри	Група контролю	Група порівняння	Основна група
Неактивовані тромбоцити (%)	75,5 ± 9,3	40,4 ± 5,1*	41,2 ± 4,3*
Агреговані тромбоцити (%)	6,8 ± 0,82	16,8 ± 2,0*	17,1 ± 1,9*
Дегранульовані форми (%)	6,3 ± 1,1	18,3 ± 2,7*	18,6 ± 2,2*
Активовані тромбоцити (%)	24,5 ± 1,9	59,6 ± 6,9*	58,8 ± 7,6*
Альфа-гранули (мкм <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	0,108±0,031	0,061±0,012*	0,064±0,009*
Дельта-гранули (мкм <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	0,037±0,012	0,027±0,011	0,028±0,007
Лямбда-гранули (мкм <sup>2</sup> )	0,142±0,037	0,106±0,023	0,108±0,031
Мітохондрії (мкм <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	0,024±0,008	0,014±0,003*	0,013±0,003*
Дискоцити (%)	83,4 ± 4,8	58,1 ± 4,5*	57,8 ± 6,1*
Дискоехіноцити (%)	11,6 ± 4,2	26,7 ± 2,1*	26,1 ± 2,7*
Сфероцити (%)	2,91 ± 0,70	6,31 ± 0,9*	6,19 ± 0,8*
Сфероехіноцити (%)	1,68 ± 0,33	2,78 ± 0,42*	2,83 ± 0,37*
Біполярні тромбоцити (%)	0,53 ± 0,18	0,94 ± 0,31	0,91 ± 0,18
Активні тромбоцити (%)	16,6 ± 2,2	40,2 ± 5,3*	41,6 ± 4,5*
Малі тромбоцитарні агрегати	3,10 ± 0,71	11,26 ± 1,36*	11,42 ± 1,39*
Великі тромбоагрегати	0,17 ± 0,02	2,33 ± 0,27*	2,40 ± 0,19*
Нормальні еритроцити (%)	87,53 ± 0,94	84,11 ± 1,16	83,93 ± 2,02
Зворотно змінені (%)	9,52 ± 0,87	12,83 ± 0,75*	12,96 ± 0,90*
Незворотно змінені (%)	2,74 ± 0,19	3,06 ± 0,24*	3,11 ± 0,26*

Примітка: \* – вірогідна відмінність від групи контролю ( $p<0,05$ ).

За даними фазово-контрастної мікроскопії, кількість малих тромбоцитарних агрегатів у 3,6 раза (група порівняння) і 3,7 раза (основна група) перевищувала показник групи контролю. Крім того, у хворих цього контингенту з'являлися середні та великі агрегати, котрі в ряді випадків містили домішок із лейкоцитів і еритроцитів. Присутність незрілих форм нейтрофілів свідчила про ушкодження ендотеліальної функції, а також про перебіг активного внутрішньосудинного запального процесу.

Кореляційний аналіз виявив існування суттєвих зв'язків між вмістом активованих, дегранульованих і агрегованих тромбоцитів. Вірогідно зменшена стосовно контролю щільність упаковки альфа-гранул (на 43,5%) зворотно і сильно корелювала з параметрами внутрішньосудинної активації тромбоцитів, а також із концентрацією тромбоцитарних агрегатів усіх розмірів. Вміст дельта-гранул унаслідок значного варіювання їхньої кількості у грануломері тромбоцитів не відрізнявся статистично вагомо від показників контрольної групи, але кореляційний аналіз виявив їх вірогідний зворотний зв'язок із відносною кількістю агрегованих ( $r=-0,74$ ;  $p<0,05$ ), дегранульованих ( $r=-0,70$ ;  $p<0,05$ ) і активованих тромбоцитів ( $r=-0,55$ ;  $p<0,05$ ), а також чітку пряму кореляцію з вмістом альфа- і лямбда-гранул тромбоцитів.

Показник лізосомальної активності у хворих цього контингенту (HbA1c у межах від 7% до 8%) встановлював вірогідну кореляцію з параметрами внутрішньосудинної активації тромбоцитів, а також із вмістом інших типів тромбоцитарних гранул і рівнем малих циркулюючих агрегатів. Щільність упаковки мітохондрій тромбоцитів вірогідно поступалася показнику контрольної групи (на 41,7-45,8%), встановлюючи позитивний кореляційний зв'язок із часткою неактивованих клітин ( $r=+0,60$ ;  $p<0,05$ ), зворотний зв'язок – із вмістом дегранульованих тромбоцитів ( $r=-0,61$ ;  $p<0,05$ ), що вказувало на ушкодження енергетичного апарату клітинної ланки гемостазу на тлі недостатньої компенсації гіперглікемії.

При проведенні мікроскопії збагаченої тромбоцитами фракції крові у хворих на ЦД 2 типу з недостатнім глікемічним контролем і АГ спостерігалось статистично вагоме зниження вмісту нормальних дископодібних тромбоцитів унаслідок різкого зростання кількості дискоехіноцитів, сфероцитів і сфероехіноцитів, що призводило до дворазового підвищення вмісту активних клітин: у групі порівняння – у 2,4 раза, в основній групі – у 2,5 раза. Також у цих клінічних групах виявили різке зростання в циркуляції малих тромбоцитарних агрегатів (у 3,6-3,7 раза) і тромбоагрегатів середніх і великих розмірів (у 13,7-14,1 раза) у порівнянні з контрольними значеннями. При цьому рівень агрегатоутворення малих гомогенних форм встановлював вірогідну кореляцію з більшістю досліджуваних морфологічних параметрів тромбоцитарного гемостазу. На тлі недостатньої компенсації гіперглікемії агрегаційна активність у напрямі утворення середніх і великих (переважно складних) агрегатів, на відміну від групи пацієнтів з якісним глікемічним контролем, встановлювала вірогідну пряму кореляцію з



Параметри	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	-0,53	+0,82	+0,60	+0,77	-0,73	-0,31	-0,18	+0,20	+0,76	+0,22
2	-0,28	+0,55	+0,22	+0,62	-0,51	-0,22	+0,09	-0,34	+0,64	+0,15
3	+0,07	+0,12	+0,17	+0,22	+0,14	-0,22	+0,16	-0,04	+0,20	+0,21
4	-0,69	+0,83	+0,88	+0,76	-0,72	-0,57	-0,49	+0,18	+0,69	+0,25
5	-0,63	+0,71	+0,52	+0,79	-0,57	-0,48	-0,60	+0,24	+0,51	+0,08
6	-0,76	+0,72	+0,66	+0,81	-0,63	-0,53	-0,47	-0,21	+0,79	+0,22
7	+0,16	+0,09	+0,30	+0,06	+0,23	+0,15	-0,03	+0,10	+0,08	+0,24
8	-0,53	+0,66	+0,61	+0,75	-0,15	-0,23	+0,06	-0,21	+0,56	+0,20
9	+0,21	+0,13	-0,09	-0,48	+0,18	+0,22	+0,17	+0,35	-0,51	+0,23
10	-0,14	+0,55	+0,18	-0,23	-0,12	-0,30	+0,11	-0,06	+0,61	+0,14
11	+0,23	+0,50	+0,20	+0,16	-0,12	-0,17	-0,12	+0,19	+0,20	+0,08
12	-0,54	-0,18	+0,30	+0,68	-0,70	-0,22	+0,16	-0,31	+0,17	+0,11
13	+0,26	-0,17	+0,12	+0,25	+0,24	+0,11	+0,27	+0,13	+0,20	+0,19
14	-0,51	+0,59	+0,48	+0,70	-0,55	-0,52	+0,24	+0,11	+0,16	+0,12
15	-0,56	+0,63	+0,60	+0,57	-0,53	-0,59	-0,22	+0,18	+0,30	+0,28

Рис. 1. Кореляційні зв'язки між клініко-лабораторними і морфологічними параметрами у хворих на ЦД 2 типу з недостатньою компенсацією й АГ. Перелік параметрів: 1 – HbA1c; 2 – САТ; 3 – ДАТ; 4 – ендотелін-1; 5 – фактор Вілебранда; 6 – тромбомодулін; 7 – гемоглобін; 8 – рівень альбумінурії; 9 – ШКФ; 10 – сечовина; 11 – креатинін; 12 – загальний холестерин; 13 – ЛПВЩ; 14 – ЛПНЩ; 15 – тригліцериди; 16 – неактивовані тромбоцити; 17 – агреговані тромбоцити; 18 – дегранульовані тромбоцити; 19 – активовані тромбоцити; 20 – альфа-гранули; 21 – дельта-гранули; 22 – лямбда-гранули; 23 – мітохондрії; 24 – малі тромбоцитарні агрегати; 25 – середні та великі тромбоцитарні агрегати. Жирним шрифтом наведені статистично вагомі коефіцієнти лінійної кореляції ( $p < 0,05$ ).

вмістом агрегованих ( $r = +0,49$ ) і активованих ( $r = +0,54$ ) тромбоцитів, а також зворотний зв'язок із щільністю упакування альфа-гранул ( $r = -0,61$ ;  $p < 0,05$ ).

Підрахунок вмісту зворотно трансформованих еритроцитів дав змогу виявити вірогідне підвищення параметра в обох клінічних групах хворих із недостатньою компенсацією: у групі порівняння – на 34,8%, в основній групі – на 36,1%. Вміст незворотно змінених форм еритроцитів у цих хворих також суттєво перевищував контрольний рівень (табл. 2).

Виходячи із завдань дослідження, нами проведено визначення взаємозв'язку між показниками, що характеризують стан ендотеліальної функції, функції нирок, ліпідемічного профілю у хворих на ЦД 2 типу з АГ, з даними морфологічного вивчення тромбоцитарної ланки гемостазу у цих пацієнтів (рис. 1). Розрахунок коефіцієнтів парної лінійної кореляції засвідчив наявність вірогідного зворотного зв'язку між рівнем HbA1c та вмістом неактивованих тромбоцитів ( $r = -0,53$ ) і щільністю упакування альфа-гранул ( $r = -0,73$ ).

На тлі недостатньої компенсації гіперглікемії концентрація глікованого гемоглобіну щільно корелювала з часткою активованих тромбоцитів ( $r = +0,77$ ;  $p < 0,05$ ), з рівнем агрегованих форм ( $r = +0,82$ ;  $p < 0,05$ ) і концентрацією малих

тромбоцитарних агрегатів крові ( $r = +0,76$ ;  $p < 0,05$ ), встановлювала позитивний зв'язок із часткою дегранульованих тромбоцитів ( $r = +0,60$ ;  $p < 0,05$ ).

Підвищені рівні маркерів ендотеліальної дисфункції знаходились у щільному кореляційному зв'язку з більшістю ультраструктурних параметрів судинно-тромбоцитарного гемостазу. У хворих цього контингенту найбільша сила вірогідних лінійних кореляцій спостерігалася в парях: ендотелін-1 і агреговані тромбоцити ( $r = +0,83$ ), ендотелін-1 і дегранульовані тромбоцити ( $r = +0,88$ ), фактор Вілебранда й активовані тромбоцити ( $r = +0,79$ ), тромбомодулін і активовані тромбоцити ( $r = +0,81$ ), тромбомодулін і малі тромбоцитарні агрегати ( $r = +0,79$ ).

Показники стану функції нирок встановлювали таку структуру кореляційних зв'язків із морфологічними параметрами тромбоцитів: відзначалася пряма кореляція рівня альбумінурії з часткою активованих ( $r = +0,75$ ;  $p < 0,05$ ) і агрегованих тромбоцитів ( $r = +0,66$ ;  $p < 0,05$ ), а також вмістом малих тромбоцитарних агрегатів ( $r = +0,56$ ;  $p < 0,05$ ). Встановлювалась помірна за силою зворотна кореляція з вмістом неактивованих форм ( $r = +0,53$ ;  $p < 0,05$ ) і прямий зв'язок із концентрацією дегранульованих клітин ( $r = +0,61$ ;  $p < 0,05$ ). Концентрації сечовини і креатиніну, а також показ-



ники ШКФ слабо корелювали з більшістю морфологічних критеріїв порушення тромбоцитарної ланки гемостазу, за виключенням вмісту малих тромбоцитарних агрегатів крові.

Ознаки атерогенної тріади дисліпідемії, які у хворих цього контингенту вказували на суттєві відхилення від показників групи контролю, не лише мали кореляційний зв'язок із часткою активованих тромбоцитів і вмістом їх альфа- і дельта-гранул, а й утворювали нові помірної сили кореляції з іншими досліджуваними параметрами морфології тромбоцитів. Зокрема, на тлі недостатньої глікемічної компенсації формувалися вірогідні значення коефіцієнтів лінійної кореляції в парах: загальний холестерин і неактивовані тромбоцити ( $r=-0,54$ ), холестерин ЛПНЩ і неактивовані тромбоцити ( $r=-0,51$ ), холестерин ЛПНЩ і агреговані форми ( $r=+0,59$ ), холестерин ЛПНЩ і деагранульовані тромбоцити ( $r=+0,48$ ). Також рівень гіпергліцеридемії в цих хворих встановлював статистично вагомі кореляційні зв'язки з усіма дослідженими параметрами внутрішньосудинної активації тромбоцитів.

#### Висновки

1. Поглиблення ендотеліальної дисфункції у хворих із недостатньою компенсацією цукрового діабету 2 типу й артеріальною гіпертензією щільно корелює зі ступенем

нефропатичних і дисліпідемічних порушень. У цих пацієнтів відбувається вірогідне зростання рівня альбумінурії, зменшення швидкості клубочкової фільтрації, підвищення концентрацій сечовини та креатиніну.

2. У хворих із недостатньою компенсацією порушення тромбоцитарного гемостазу виявляються у вірогідному збільшенні відносного вмісту активованих тромбоцитів на 126,9-135,9% із підвищенням вмісту агрегованих і деагранульованих форм та появою численних тромбоцитів із дисбалансом альфа- і дельта-гранул, а також редукцією мітохондрій тромбоцитів.

3. Зі зростанням рівня глікованого гемоглобіну на тлі значного посилення зв'язків між показниками ендотеліальної дисфункції й ушкодженої тромбоцитарної ланки гемостазу (до  $r=+0,95$ ) утворюються вірогідні кореляції ультраструктурних характеристик тромбоцитів із клініко-лабораторними ознаками нефропатичних і дисліпідемічних змін.

**Перспективи подальших досліджень** пов'язані з вивченням впливу тривалої цукрознижувальної та антигіпертензивної терапії на структуру взаємозв'язків між клініко-лабораторними і морфологічними параметрами ендотеліальної дисфункції та тромбоцитарного гемостазу у хворих із недостатньою компенсацією ЦД.

#### Список літератури

1. Сахарный диабет: острые и хронические осложнения / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М. : Медицинское информационное агентство, 2011. – 480 с.
2. Epstein M. Diabetes and hypertension: the bad companions / M. Epstein // J. Hypertension. – 1997. – Vol. 15. – Suppl. 2. – P. 55–62.
3. Torimoto K. Relationship between fluctuations in glucose levels measured by continuous glucose monitoring and vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus / K. Torimoto, Y. Okada, H. Mori, Y. Tanaka // Cardiovasc. Diabetol. – 2013. – Vol. 13. – P. 18–24.
4. Xu J. Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction / J. Xu, M.N. Zou // Circulation. – 2009. – Vol. 13. – P. 1266–1286.
5. Demirtunc R. The relationship between glycemic control and platelet activity in type 2 diabetes mellitus / R. Demirtunc, D. Duman, M. Basar // J. Diabetes Complications. – 2009. – Vol. 23. – №2. – P. 89–94.
6. Lusher T.F. Biology of the endothelium / T.F. Lusher, M. Barton // Clin. Cardiol. – 1997. – Vol. 10. – Suppl. 11. – P. 3–10.
7. Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения / А.С. Аметов. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 704 с.
8. Mathewkutty S. Platelet perturbations in diabetes: implications for cardiovascular disease risk and treatment / S. Mathewkutty, D.K. McGuire // Expert. Rev. Cardiovasc. Ther. – 2009. – Vol. 7. – № 5. – P. 541–549.
9. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications / P. Martin-Gallan, A. Carrascosa, M. Gussinye, C. Dominguez // Free Rad. Biol. Med. – 2003. – Vol. 34. – № 12. – P. 1563–1574.
10. Heude B. Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes / B. Heude // Amer. J. Clin. Nutrition. – 2003. – Vol. 77. – №4. – P. 803–808.
11. Витковский Ю.А. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // Медицинская иммунология. – 2006. – №5. – С. 745–752.

12. Алексеев В.В. Медицинские лабораторные технологии. Руководство по клинической лабораторной диагностике : в 2 т. / В.В. Алексеев, А.И. Карпищенко. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 472 с.
13. Sawatzke C.L. Fixation and embedding of small volumes of platelets for transmission electron microscopy / C.L. Sawatzke, C.C. Solomons // J. Clin. Pathol. – 1980. – Vol. 33. – №6. – P. 600–602.
14. Миронов А.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине: Методическое руководство / А.А. Миронов, Я.Ю. Комиссарчик, В.А. Миронов. – СПб. : Наука, 1994. – 400 с.
15. Медведев И.Н. Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях / И.Н. Медведев, А.П. Савченко, С.Ю. Завалишина // Российский кардиологический журнал. – 2009. – №6. – С. 42–45.
16. Лакин Г.Ф. Биометрия : учеб. пособ для биол. спец. вузов. / Г.Ф. Лакин. – [4-е изд., перераб. и доп.]. – М. : Высшая школа, 1990. – 352 с.

#### References

1. Dedov, I. I. & Shestakova, M. V. (Eds.) (2011) *Saharnyj diabetes: ostrye i khronicheskie oslozhneniya [Diabetes: acute and chronic complications]*. Moscow: Medical Information Agency. [In Russian].
2. Epstein, M. (1997) Diabetes and hypertension: the bad companions. *Hypertension*, 15(2), 55–62.
3. Torimoto, K., Okada, Y., Mori, H. & Tanaka, Y. (2013) Relationship between fluctuations in glucose levels measured by continuous glucose monitoring and vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol*, 13, 18–24.
4. Xu, J. & Zou, M. N. (2009) Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction. *Circulation*, 13, 1266–1286. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.835223.
5. Demirtunc, R., Duman, D. & Basar, M. (2009) The relationship between glycemic control and platelet activity in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*, 23(2), 89–94. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2008.01.006.
6. Lusher, T. F. & Barton, M. (1997) Biology of the endothelium. *Clin Cardiol*, 10(11), 3–10.



7. Ametov, A. S. (2012) *Saharnyj diabet 2 tipa. Problemy i resheniya [Type 2 diabetes mellitus. Problems and Solutions]*. Moscow: GEOTAR-Media. [in Russian].
8. Mathewkutty, S. & McGuire, D.K. (2009) Platelet perturbations in diabetes: implications for cardiovascular disease risk and treatment. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 7(5), 541–549. doi: 10.1586/erc.09.30.
9. Martin-Gallan, P., Carrascosa, A., Gussinye, M. & Dominguez, C. (2003) Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without sub-clinical complications. *Free Rad Biol Med*, 34(12), 1563–1574. doi: 10.1016/S0891-5849(03)00185-0.
10. Heude, B. (2003) Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes. *Amer J Clin Nutrition*, 77(4), 803–808.
11. Vitkovskiy, Yu. A., Kuznik, B. I. & Solpov, A. V. (2006) [Pathogenetic significance of lymphocyte-platelet adhesion]. *Medicinskaja immunologija*, 5, 745–752. [in Russian].
12. Alekseev, V. V. & Karpishchenko, A. I. (2012) *Medicinskie laboratornye tehnologii. Rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoj diagnostike [Medical laboratory technology. Manual of Clinical Laboratory Diagnostics]*. Moscow: GEOTAR-Media. [In Russian].
13. Sawatzke, C. L. & Solomons, C. C. (1980) Fixation and embedding of small volumes of platelets for transmission electron microscopy. *J Clin Pathol*, 33(6), 600–602. doi: 10.1136/jcp.33.6.600.
14. Mironov, A. A., Komissarchik, Yu. Ya. & Mironov, V. A. (1994) *Metody e'lektronnoj mikroskopii v biologii i medicine [Electron microscopy methods in biology and medicine]*. Sain Petersburg: Nauka. [In Russian].
15. Medvedev, I. N., Savchenko, A. P. & Zavalishina, S. Yu. (2009) Metodicheskie podhody k issledovaniyu reologicheskikh svojstv krovi pri razlichnykh sostoyaniyakh [Methodological approaches to the study of the rheological properties of blood in different states]. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal*, 5, 42–45. [In Russian].
16. Lakin, G. F. (1990) *Biometriya [Biometrics]*. Moscow: Vysshaya shkola. [In Russian].

**Відомості про автора:**

Перцева Н.О., к. мед. н., доцент каф. госпітальної терапії №2, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»,  
E-mail: npertseva@dsma.dp.ua.

Поступила в редакцію 07.11.2014 г.