



Н. О. Перцева

## Оцінка взаємозв'язку ендотеліальної функції та судинно-тромбоцитарного гемостазу у хворих із доброю компенсацією цукрового діабету 2 типу та артеріальною гіпертонією

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

**Ключові слова:** цукровий діабет 2 типу, артеріальна гіпертензія, ендотеліальна дисфункція, гемостаз.

З метою визначення зв'язків між ендотеліальною дисфункцією, ступенем ушкодження функції нирок, ліпідемічним профілем і морфологічними змінами судинно-тромбоцитарного гемостазу у хворих із доброю компенсацією цукрового діабету 2 типу й артеріальною гіпертензією здійснили клініко-лабораторне та морфологічне дослідження 69 хворих. Крім загальноклінічного обстеження і визначення рівня глікованого гемоглобіну вивчили спеціальні клініко-лабораторні параметри: концентрацію маркерів ендотеліальної дисфункції, наявність мікроальбумінурії, швидкість клубочкової фільтрації, рівні сечовини і креатиніну, концентрацію загального холестерину, холестерину ліпопротеїдів високої та низької щільності, а також тригліцеридів. Встановили, що за умов якісного глікемічного контролю морфологічні критерії пошкодження тромбоцитарного гемостазу чітко корелюють із маркерами ендотеліальної дисфункції, проте не виявляють істотних взаємозв'язків із показниками функції нирок і ліпідного спектра крові.

### Оценка взаимосвязи эндотелиальной функции и сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у больных с хорошей компенсацией сахарного диабета 2 типа и артериальной гипертензией

Н. О. Перцева

С целью определения связей между эндотелиальной дисфункцией, степенью повреждения функции почек, липидемическим профилем и морфологическими изменениями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у больных с хорошей компенсацией сахарного диабета 2 типа и артериальной гипертензией провели клинико-лабораторное и морфологическое исследование 69 больных. Кроме общеклинического обследования и определения уровня гликированного гемоглобина изучили специальные клинико-лабораторные параметры: концентрацию маркеров эндотелиальной дисфункции, наличие микроальбуминурии, скорость клубочковой фильтрации, уровни мочевины и креатинина, концентрацию общего холестерина, холестерина липопротеидов высокой и низкой плотности, а также триглицеридов. Установлено, что в условиях качественного гликемического контроля морфологические критерии повреждения тромбоцитарного гемостаза отчетливо коррелируют с маркерами эндотелиальной дисфункции, однако не проявляют существенных взаимосвязей с показателями функции почек и липидного спектра крови.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертензия, эндотелиальная дисфункция, гемостаз.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики.** – 2015. – № 1 (17). – С. 82–88

### Evaluation of relationship between endothelial function and vascular-platelet hemostasis in patients with good compensation of type 2 diabetes mellitus and 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 69 patients with good glycemic compensation using clinical, laboratory, morphological methods and correlational analysis association between endothelial dysfunction, degree of renal function damage, lipidemic profile and morphological changes of vascular-platelet hemostasis has been identified.

**Conclusion.** It has been established that in the good glycemic control morphological criteria of platelet hemostasis damage clearly correlated with markers of endothelial dysfunction, but did not show significant relationships with indicators of renal function and blood lipid profile.

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

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2015; № 1 (17): 82–88**

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

При ендотеліальній дисфункції, для якої характерне

порушення всіх регуляторних властивостей стінки судин, зменшується утворення NO, активується синтез і секреція ендотеліну-1, збільшуються концентрації фактора Вілебранда, інгібітора активатора плазміногену-1 і тромбомодуліну, а також активуються процеси перекисного окислення ліпідів [5]. Важливу роль у патогенезі діабетичних порушень відіграють зміни системи гемостазу та порушення реологічних функцій – ендотелію судин, тромбоцитів, фібринолізу та гемокоагуляції [6]. Виразні гемореологічні дефекти визна-

чаються вже на ранніх стадіях діабетичної ангіопатії та характеризуються підвищенням в'язкості крові, плазми й агрегаційної здатності еритроцитів і тромбоцитів, а також фібринолітичної активності плазми [7].

Гіперліпідемія та дисліпопротеїнемія погіршують реологічні властивості крові, що призводить до порушення кровообігу й 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 [8]. Деендотелізація судин з оглядом базальної мембрани й 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 [9,10].

Сучасні уявлення про патогенез формування та розвитку ендотеліальної дисфункції мають фрагментарний характер і стосуються переважно впливу окремих факторів: гіперхолестеринемії, гіперглікемії, високого напруження гемодинамічного зсуву [7]. 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 й опрацювання численні питання, які 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 доброю компенсацією цукрового діабету 2 типу та артеріальною гіпертензією.

#### Пацієнти і методи дослідження

Клініко-лабораторне і морфологічне дослідження здійснили у 69 (54 жінки, 15 чоловіків) хворих із доброю компенсацією ЦД 2 типу (концентрація глікованого гемоглобіну до 7%) і гіпертонічною хворобою з АГ 1–3 ступенів. Діагнози верифікували згідно з наказами МОЗ України №436 від 03.07.2006 р. і №1118 від 21.12.2012 р. Пацієнтів поділили на 2 групи: основну (37 осіб, середній вік – 63,7±5,1 року) і групу порівняння (32 особи, середній вік – 60,6±5,5 року). В обох групах терапія АГ передбачала застосування тіазидоподібних діуретиків, інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту, блокаторів β-адренорецепторів, антагоністів кальцію, котрі призначали індивідуалізовано в необхідних дозах. До основної групи увійшли пацієнти, в яких в антигіпертензивній терапії використали антагоніст рецепторів ангіотензину II лозартан (Лозап®, Zentiva). Групи хворих зіставні за віком, статтю, індексом маси тіла, тривалістю АГ і ЦД. У контрольній групі, до якої увійшли 28 волонтерів – практично здорових осіб, вік та індекс маси тіла також статистично значущо не відрізнялись

від показників хворих клінічних груп.

Усі дослідження виконали відповідно до етичних принципів Гельсінської декларації з дозволу комісії з біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

Крім загальноклінічного обстеження і визначення рівня глікованого гемоглобіну (HbA1c), вивчили такі спеціальні клініко-лабораторні параметри: концентрацію маркерів ендотеліальної дисфункції (ендотеліну-1, фактора Вілебранда і тромбомодуліну), наявність мікроальбумінурії (МАУ), швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), рівні сечовини та креатиніну, концентрацію загального холестерину, холестерину ліпопротеїдів високої і низької щільності (ЛПВЩ і ЛПНЩ), а також тригліцеридів. Клініко-лабораторні дослідження здійснили відповідно до рекомендацій фірм-виробників діагностичних тест-систем на основі сучасних принципів лабораторних технологій [11]. ШКФ розраховували за формулою MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study). Імуноферментний аналіз маркерів ендотеліальної дисфункції виконали на базі діагностичного центру ТОВ «Аптеки медичної академії» (м. Дніпропетровськ) за допомогою наборів реактивів виробництва «Technoclon GmbH» та «Biomedica Medizinprodukte» (Австрія).

Для ультраструктурного аналізу тромбоцитів фракцію збагаченої тромбоцитами плазми використовували для наступного дослідження відповідно до рекомендацій [12]. Для виготовлення епоксидних блоків використовували композицію епон-аралдїт. Ультратонкі зрізи робили на ультрамікромомі УМТП-6М («SELMi», Україна). Дослідження виконали за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 («SELMi», Україна) при напрузі прискорення 65–90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 80000. Електронномікроскопічне дослідження здійснили за стандартною схемою [13]. Поверхневу цитоархітектоніку еритроцитів і тромбоцитів венозної крові вивчили за допомогою мікроскопа Люмам И-2 («ЛЮМО», РФ) у режимі фазового контрасту при використанні пристрою КФ-5. Морфологічне типування формених елементів крові здійснювали за [14].

Статистично результати опрацювали з використанням пакетів ліцензійних програм Statistica 6.1 і SPSS 13.0. Вірогідність розходжень між вибірками визначали з урахуванням парного t-критерію Стьюдента, а також непараметричного критерію Вілкоксона у разі відсутності нормального статистичного розподілу. Відповідність розподілу величин нормальному (Гауса) оцінювали за допомогою визначення коефіцієнтів ексцесу й асиметрії з використанням відповідних таблиць. Визначення необхідного об'єму вибірки у групах дослідження встановлювали за формулою [15]:

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

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 виконали на основі обчислення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона

(нормальний розподіл) або коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (асиметричний розподіл) із наступним визначенням ступеня його статистичної значущості [15].

### Результати та їх обговорення

Клініко-лабораторне дослідження показало, що концентрація HbA1c у пацієнтів із доброю компенсацією ЦД 2 типу та АГ вірогідно перевищувала середній показник групи контролю, але в усіх хворих рівень параметра не виходив за межі 7%, що свідчило про добру компенсацію глікемії. Серед 69 пацієнтів цільові значення артеріального тиску (АТ) (нижче за 130/80 мм рт.ст.) визначили у 49 (71,0%) осіб; значення САТ (на відміну від ДАТ) позитивно корелювало з концентрацією глікованого гемоглобіну ( $r=+0,55$ ;  $p<0,05$ ). Це супроводжувалось вірогідним підвищенням концентрацій ендотеліну-1, фактора Вілебранда і тромбомодуліну, що характеризують ступінь ендотеліальної дисфункції (табл. 1). У більшості хворих ці три параметри не виходили за межі референсного діапазону, але суттєво перевищували середні значення групи контролю. Зокрема, в обох групах хворих на ЦД 2 типу та АГ концентрація ендотеліну-1 більше ніж у 4 рази перевищувала контрольний рівень, рівень фактора Вілебранда – майже втричі, концентрація тромбомодуліну в 2,7 рази (група порівняння) і 2,8 рази (основна група) перевищувала відповідні контрольні значення. Враховуючи, що тромбомодулін у нормі надійно пов'язаний із мембраною ендотеліальних клітин і майже відсутній у циркуляції, є підстави інтерпретувати його підвищення в обстежених (поряд із підвищенням рівнів ендотеліну-1 і фактора Вілебранда) як свідчення розвинутої ендотеліальної дисфункції, навіть за умов якісного глікемічного контролю.

За допомогою кореляційного аналізу встановили, що рівні кожного з показників ендотеліальної дисфункції

мали вірогідний позитивний зв'язок між собою, а також із концентрацією глікованого гемоглобіну. Рівень HbA1c вірогідно корелював із величинами САТ, альбумінурії, концентрацією ЛПНЩ. Прямий кореляційний зв'язок виявили і між вмістом ендотеліну-1 і тромбомодуліну та величинами САТ, що показує тісну патогенетичну взаємозалежність між характером ушкодження ендотелію та ефективністю попередньої антигіпертензивної терапії у цього контингенту хворих із давністю АГ  $10,1\pm 1,9$  року у групі порівняння та  $13,2\pm 2,1$  року в основній клінічній групі.

Клініко-лабораторні дані, що характеризують функцію нирок у пацієнтів із ЦД 2 типу й АГ, свідчили про помірні нефропатичні зміни. Зокрема, МАУ виявили у 24 (34,8%) пацієнтів, середній рівень альбумінурії в 3,2 рази (група порівняння) та в 3,6 рази (основна група) перевищував контрольні значення. Макроальбумінурію не зафіксували в жодного хворого. ШКФ коливалась у межах норми в обох клінічних групах. Концентрації сечовини і креатиніну широко варіювали у більшості хворих і не перевищували верхньої межі референсного інтервалу (табл. 1).

За результатами кореляційного аналізу між показниками функції нирок встановили суттєві прямі зв'язки: рівень альбумінурії корелював із концентраціями сечовини ( $r=+0,71$ ;  $p<0,05$ ) і креатиніну крові ( $r=+0,55$ ;  $p<0,05$ ), проте не виявили суттєвої взаємозалежності із ШКФ, що, на наш погляд, пов'язано з поліфакторністю формування фільтраційної функції у хворих на АГ. Підтвердженням цього припущення була відсутність вірогідних кореляцій показників ШКФ із більшістю інших клініко-лабораторних параметрів, за винятком зворотного зв'язку з концентрацією фактора Вілебранда ( $r=-0,60$ ;  $p<0,05$ ).

Таблиця 1

### Стан клініко-лабораторних параметрів у контрольній групі та у хворих на ЦД 2 типу з доброю компенсацією і АГ, $M\pm m$

Параметри, одиниці вимірювання	Група контролю	Група порівняння	Основна група
HbA1c, %	4,61±0,23	6,63±0,32*	6,72±0,38*
САТ, мм рт.ст.	122,5±6,9	132,9±9,5	136,1±6,1
ДАТ, мм рт.ст.	75,2±7,8	75,1±6,3	77,9±5,8
Ендотелін-1, фмоль/мл	0,19±0,06	0,82±0,11*	0,80±0,04*
Фактор Вілебранда, од/мл	0,63±0,09	1,84±0,11*	1,80±0,13*
Тромбомодулін, нг/мл	2,62±0,48	7,19±0,94*	7,43±1,07*
Гемоглобін, г/л	141,2±12,7	137,4±9,6	134,1±10,8
Рівень альбумінурії, мг/л	8,1±1,3	26,2±4,1*	28,9±3,7*
ШКФ, мл/хв	98,1±10,8	93,5±6,1	91,5±5,4
Сечовина, ммоль/л	5,62±0,96	5,78±0,86	5,80±0,74
Креатинін, ммоль/л	63,2±8,8	76,5±9,4	76,1±8,3
Загальний холестерин, ммоль/л	4,10±0,62	5,64±0,80	5,74±0,73
ЛПВЩ, ммоль/л	1,61±0,35	1,32±0,41	1,33±0,47
ЛПНЩ, ммоль/л	2,10±0,41	3,32±0,52*	3,46±0,49*
Тригліцериди (ммоль/л)	1,39±0,18	1,98±0,46	2,14±0,59

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

Найбільш тісні зв'язки виявили між величинами альбумінурії та рівнем глікованого гемоглобіну ( $r=+0,76$ ;  $p<0,05$ ), концентраціями ендотеліну-1 ( $r=+0,66$ ;  $p<0,05$ ) і фактора Вілебранда ( $r=+0,59$ ;  $p<0,05$ ). Зважаючи, що альбумінурія досягала рівня 20 мг/л лише у 34,8% хворих із доброю компенсацією глікемії, чітка кореляція цього параметра з маркерами ендотеліальної дисфункції вказує на його роль не лише як показника ниркової функції, але й чутливого індикатора ушкодження ендотелію за умов якісного контролю глікемії.

Аналіз ліпідемічного профілю крові не виявив значної статистично вагомої різниці в пацієнтів із ЦД 2 типу з доброю компенсацією і АГ від середніх значень контрольної групи, за винятком рівня холестерину ЛПНЩ – підвищення параметра на 58,1% ( $p<0,05$ ) у хворих групи порівняння і на 64,8% ( $p<0,05$ ) у пацієнтів основної групи. Однак слід зауважити, що в більшості обстежених визначили тенденцію до зростання концентрації загального холестерину вище цільових значень, які передбачені рекомендаціями ESC (2007), а також збільшення ступеня тригліцеридемії на тлі зниження концентрації холестерину ЛПВЩ.

Результати кореляційного аналізу виявили вірогідний позитивний зв'язок вмісту загального холестерину з холестерином ЛПНЩ, зворотну кореляцію – з холестерином ЛПВЩ. Також тісний негативний зв'язок спостерігали між концентраціями холестерину ЛПВЩ і ЛПНЩ ( $r=-0,68$ ;  $p<0,05$ ); значна позитивна кореляція пов'язувала обидва параметри з рівнем тригліцеридемії, відбиваючи атерогенну тріаду дисліпідемії у хворих на ЦД 2 типу. Привертала увагу значна кореляція між

параметрами ліпідного обміну і показниками ендотеліальної дисфункції – підвищеними рівнями ендотеліну-1 і тромбомодуліну. Зважаючи на роль ендотеліну-1 як одного з найбільш потужних вазоконстрикторів, а також на значення тромбомодуліну в реалізації патологічних наслідків ендотеліальної дисфункції, можна зробити припущення про взаємну ініціалізацію патогенетичних механізмів зростання дисліпідемії в пацієнтів з АГ навіть за умов доброї компенсації глікемії. Це припущення підтверджувалось наявністю вірогідного кореляційного зв'язку між концентрацією холестерину ЛПНЩ і рівнем глікованого гемоглобіну у хворих групи порівняння та у пацієнтів основної групи ( $r=+0,67$ ).

Морфологічний аналіз формених елементів крові у хворих на ЦД 2 типу з доброю компенсацією та АГ за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії й фазово-контрастної мікроскопії виявив суттєву активацію тромбоцитів із залученням лейкоцитів різних типів. Так, частка активованих тромбоцитів зростала більш ніж удвічі і перевищувала вміст неактивованих клітин (табл. 2). В обох клінічних групах спостерігали дворазове збільшення кількості агрегованих форм. Дегранульовані тромбоцити за відносним вмістом у 2,7 раза (група порівняння) та у 2,9 раза (основна група) перевищували показник групи контролю шляхом вивільнення переважно альфа-гранул, що у своєму складі поміж численних білкових молекул містять фібриноген і фактор Вілебранда.

На тлі тісних кореляційних зв'язків між вмістом активованих, дегранульованих та агрегованих тромбоцитів щільність упакування альфа-гранул також чітко корелю-

Таблиця 2

**Стан морфологічних параметрів крові в контрольній групі та у хворих на ЦД 2 типу з доброю компенсацією та АГ,  $M \pm m$**

Параметри, одиниці вимірювання	Група контролю	Група порівняння	Основна група
Неактивовані тромбоцити, %	75,5 $\pm$ 9,3	44,3 $\pm$ 4,2*	45,4 $\pm$ 4,7*
Агреговані тромбоцити, %	6,8 $\pm$ 0,82	13,7 $\pm$ 2,7*	14,4 $\pm$ 2,4*
Дегранульовані форми, %	6,3 $\pm$ 1,1	16,7 $\pm$ 3,4*	17,0 $\pm$ 2,8*
Активовані тромбоцити, %	24,5 $\pm$ 1,9	55,7 $\pm$ 7,2*	54,6 $\pm$ 5,2*
Альфа-гранули, мкм <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup>	0,108 $\pm$ 0,031	0,064 $\pm$ 0,024*	0,071 $\pm$ 0,021*
Дельта-гранули, мкм <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup>	0,037 $\pm$ 0,012	0,029 $\pm$ 0,017	0,030 $\pm$ 0,018
Лямбда-гранули, мкм <sup>2</sup>	0,142 $\pm$ 0,037	0,114 $\pm$ 0,026	0,105 $\pm$ 0,022
Мітохондрії, мкм <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup>	0,024 $\pm$ 0,008	0,018 $\pm$ 0,005	0,016 $\pm$ 0,007
Дискоцити, %	83,4 $\pm$ 4,8	65,2 $\pm$ 3,6*	63,2 $\pm$ 4,0*
Дискоехіноцити, %	11,6 $\pm$ 4,2	24,1 $\pm$ 3,7*	23,8 $\pm$ 3,5*
Сфероцити, %	2,91 $\pm$ 0,70	5,97 $\pm$ 1,24*	6,05 $\pm$ 1,13*
Сфероехіноцити, %	1,68 $\pm$ 0,33	2,87 $\pm$ 0,48*	2,81 $\pm$ 0,61*
Біполярні тромбоцити, %	0,53 $\pm$ 0,18	0,82 $\pm$ 0,23	0,78 $\pm$ 0,16
Активні тромбоцити, %	16,6 $\pm$ 2,2	34,1 $\pm$ 4,8*	36,5 $\pm$ 3,7*
Малі тромбоцитарні агрегати	3,10 $\pm$ 0,71	6,12 $\pm$ 1,27*	6,25 $\pm$ 1,44*
Великі тромбоагрегати	0,17 $\pm$ 0,02	0,21 $\pm$ 0,04	0,20 $\pm$ 0,04
Нормальні еритроцити, %	87,53 $\pm$ 0,94	85,34 $\pm$ 2,30	85,26 $\pm$ 3,13
Зворотно змінені, %	9,52 $\pm$ 0,87	11,74 $\pm$ 0,81	11,78 $\pm$ 0,97
Незворотно змінені, %	2,74 $\pm$ 0,19	2,92 $\pm$ 0,21	2,96 $\pm$ 0,26

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

вала з характеристиками внутрішньосудинної активації тромбоцитів. Вміст дельта-гранул унаслідок значного варіювання їхньої кількості у грануломері тромбоцитів статистично не значущо відрізнявся від показників контрольної групи, проте кореляційний аналіз виявив їхній вірогідний зворотний зв'язок із відносною кількістю агрегованих ( $r=-0,51$ ;  $p<0,05$ ) і дегранульованих клітин ( $r=-0,69$ ;  $p<0,05$ ). На наш погляд, ці дані свідчать про залучення механізмів утримування дельта-гранул у тромбоплазмі, що запобігає вивільненню неметаболічного АТФ, АДФ, серотоніну і кальцію у кров за умов доброї компенсації глікемії. З іншого боку, ці результати вказують на підвищений рівень напруження гранулярного апарату тромбоцитів, що безпосередньо відповідає за реалізацію тромбоцитарного гемостазу.

Наше припущення підтвердилось під час фазово-контрастної мікроскопії збагаченої тромбоцитами фракції крові. Зокрема, у хворих на ЦД 2 типу з доброю компенсацією та АГ спостерігали істотне зниження вмісту нормальних дископодібних тромбоцитів у групі порівняння (на 21,8%;  $p<0,05$ ) і основній клінічній групі (на 24,2%;  $p<0,05$ ) шляхом різкого збільшення кількості дискоехіноцитів, сфероцитів і сфероехіноцитів, що призводило до підвищення вмісту активних клітин удвічі. Крім того, в обстежених встановили пропорційне збільшення в циркуляції малих тромбоцитарних агрегатів, кількість яких була тісно пов'язана з параметрами, які

отримали за допомогою методу електронної мікроскопії. Кількісне оцінювання вмісту зворотно і незворотно трансформованих еритроцитів також не виявило суттєвих змін у цього контингенту хворих у порівнянні з групою контролю.

Один із найважливіших аспектів нашої роботи полягав у визначенні взаємозв'язку між комплексом клініко-лабораторних параметрів, що характеризують стан ендотеліальної функції, функції нирок, ліпідемічного профілю у хворих на ЦД 2 типу з АГ, із результатами ультраструктурного аналізу тромбоцитарної ланки гемостазу. Для цього визначили коефіцієнти парної лінійної кореляції між названими показниками (рис. 1).

Результати кореляційного аналізу показали наявність вірогідного зворотного зв'язку між вмістом неактивованих тромбоцитів і концентраціями ендотеліну-1 ( $r=-0,53$ ;  $p<0,05$ ), фактора Вілебранда ( $r=-0,68$ ;  $p<0,05$ ) та тромбомодуліну ( $r=-0,55$ ;  $p<0,05$ ). Найбільшу кількість і силу кореляцій між морфологічними показниками внутрішньосудинної активації тромбоцитів і клініко-лабораторними параметрами спостерігали щодо активованих і агрегованих форм клітин. Зокрема, підвищений рівень активованих тромбоцитів у обстежених мав високий ступінь прямої кореляції із вмістом глікованого гемоглобіну ( $r=+0,79$ ;  $p<0,05$ ), показниками САТ ( $r=+0,63$ ;  $p<0,05$ ), концентрацією маркерів ендотеліальної дисфункції, у тому числі рівнем альбумінурії ( $r=+0,73$ ), а також зі

Параметри	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	-0,20	<b>+0,73</b>	+0,32	<b>+0,79</b>	<b>-0,76</b>	-0,20	-0,06	+0,13	<b>+0,66</b>	+0,19
2	-0,07	+0,15	+0,28	<b>+0,63</b>	-0,32	-0,17	+0,12	-0,21	<b>+0,58</b>	+0,26
3	+0,14	+0,08	+0,22	+0,17	+0,06	-0,23	+0,09	-0,15	+0,13	+0,03
4	<b>-0,53</b>	<b>+0,86</b>	<b>+0,75</b>	<b>+0,63</b>	<b>-0,57</b>	<b>-0,60</b>	-0,04	+0,24	<b>+0,72</b>	+0,32
5	<b>-0,68</b>	<b>+0,70</b>	+0,16	<b>+0,58</b>	-0,25	-0,08	+0,32	+0,18	+0,25	+0,16
6	<b>-0,55</b>	<b>+0,74</b>	<b>+0,62</b>	<b>+0,60</b>	-0,16	-0,25	-0,05	-0,18	<b>+0,67</b>	+0,19
7	+0,16	+0,09	+0,30	+0,06	+0,23	+0,15	-0,03	+0,10	+0,08	+0,24
8	-0,30	<b>+0,62</b>	+0,40	<b>+0,73</b>	-0,08	-0,28	+0,21	-0,14	<b>+0,53</b>	-0,09
9	+0,11	+0,26	-0,14	+0,07	+0,20	+0,16	+0,12	+0,21	+0,09	+0,16
10	-0,27	<b>+0,51</b>	+0,21	-0,11	-0,22	-0,35	+0,08	-0,12	<b>+0,57</b>	-0,07
11	+0,15	<b>+0,58</b>	+0,16	+0,31	-0,19	-0,08	-0,15	+0,21	+0,04	+0,19
12	-0,22	-0,07	+0,37	<b>+0,64</b>	<b>-0,71</b>	-0,27	+0,28	-0,11	+0,15	+0,21
13	-0,13	+0,18	+0,09	+0,27	+0,06	-0,17	+0,22	+0,25	+0,24	+0,32
14	+0,07	+0,20	+0,17	<b>+0,79</b>	<b>-0,48</b>	<b>-0,62</b>	+0,13	+0,13	+0,07	+0,06
15	-0,20	+0,07	-0,30	+0,14	<b>-0,55</b>	<b>-0,51</b>	-0,30	+0,04	-0,19	-0,14

Рис. 1. Кореляційні зв'язки між клініко-лабораторними і морфологічними параметрами у хворих на ЦД 2 типу з доброю компенсацією і АГ. Параметри: 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. Напівжирним шрифтом наведені статистично значущі коефіцієнти лінійної кореляції ( $p<0,05$ ).

значеннями загального холестерину ( $r=+0,64$ ) і холестерину ЛПНЩ ( $r=+0,79$ ). Вміст агрегованих тромбоцитів статистично суттєво позитивно корелював із рівнем HbA1c ( $r=+0,73$ ), усіма маркерами ендотеліальної дисфункції, концентраціями сечовини ( $r=+0,51$ ) і креатиніну ( $r=+0,58$ ). На відміну від цього, значення відносного вмісту дегранульованих тромбоцитів мали вірогідну кореляцію лише з рівнями ендотеліну-1 ( $r=+0,75$ ) і тромбомодуліну ( $r=+0,62$ ). Наведений спектр взаємозв'язків свідчить про тісну взаємодію між змінами функції ендотелію, ліпідемічним профілем і показниками внутрішньосудинної активації тромбоцитів, але у хворих із доброю компенсацією глікемії найбільш чутливими до патогенетичних зсувів та першими, що вступають у їх реалізацію і взаємодіють між собою, виявились підвищення рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції та активація тромбоцитів переважно в напрямі підвищення їхньої агрегаційної здатності.

Дегранульовані форми тромбоцитів, незважаючи на значно підвищений рівень у порівнянні з контрольною групою, не мали вірогідних кореляційних зв'язків із більшістю клініко-лабораторних параметрів. Позитивну лінійну кореляцію виявили лише з рівнем ендотеліну-1 та концентрацією тромбомодуліну, проте вміст альфа-гранул знаходився в тісній зворотній кореляції не лише з ендотеліном-1 ( $r=-0,57$ ;  $p<0,05$ ), але й із концентрацією HbA1c ( $r=-0,76$ ;  $p<0,05$ ) та більшістю показників ліпідемічного профілю.

Підвищення агрегаційної активності тромбоцитів у хворих із доброю глікемічною компенсацією, яке проявлялось у збільшенні вмісту циркулюючих малих агре-

гатів удвічі, вірогідно корелювало з рівнем глікованого гемоглобіну ( $r=+0,66$ ) і показниками САТ ( $r=+0,58$ ), а також із концентраціями маркерів ендотеліальної дисфункції.

#### Висновки

1. У хворих на ЦД 2 типу з АГ із доброю компенсацією гіперглікемії ендотеліальна функція зазнає суттєвого ушкодження ще до появи клініко-лабораторних ознак порушення функції нирок і дисліпідемічних розладів, що супроводжується вірогідним збільшенням концентрації ендотеліну-1 (більш ніж у 4 рази) та підвищенням вмісту фактора Вілебранда і тромбомодуліну майже втричі у порівнянні з контрольною групою.

2. У хворих із доброю компенсацією гіперглікемії відбувається вірогідне збільшення відносного вмісту активованих тромбоцитів на 58,4–61,3% зі збереженням нормального вмісту агрегованих і дегранульованих форм і появою поодиноких тромбоцитів із дисбалансом альфа- і дельта-гранул у складі хромомера.

3. За умов доброї компенсації гіперглікемії у хворих на ЦД 2 типу з АГ морфологічні критерії пошкодження тромбоцитарного гемостазу чітко корелюють із маркерами ендотеліальної дисфункції, проте не виявляють істотних взаємозв'язків із показниками функції нирок і ліпідного спектра крові.

**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 доброю компенсацією ЦД.

#### Список літератури

- Сахарный диабет: острые и хронические осложнения / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой. – М. : Медицинское информационное агентство, 2011. – 480 с.
- 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.
- Xu J. Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction / J. Xu, M.N. Zou // *Circulation.* – 2009. – Vol. 13. – P. 1266–1286.
- 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.
- Lusher T.F. Biology of the endothelium / T.F. Lusher, M. Barton // *Clin. Cardiol.* – 1997. – Vol. 10. – Suppl. 11. – P. 3–10.
- Аметов А.С. Сахарный диабет 2 типа. Проблемы и решения / А.С. Аметов. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 704 с.
- 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.
- 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.
- Heude B. Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes / B. Heude // *Amer. J. Clin. Nutrition.* – 2003. – Vol. 77. – №4. – P. 803–808.
- Витковский Ю.А. Патогенетическое значение лимфоцитарно-тромбоцитарной адгезии / Ю.А. Витковский, Б.И. Кузник, А.В. Солпов // *Медицинская иммунология.* – 2006. – Т. 8. – №5–6. – С. 745–753.
- 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.
- 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.
- 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.
- Методические подходы к исследованию реологических свойств крови при различных состояниях / И.Н. Медведев, А.П. Савченко, С.Ю. Завалишина и др. // *Российский кардиологический журнал.* – 2009. – №5. – С. 42–45.
- Лакин Г.Ф. Биометрия : учеб. пособие 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 diabet: ostrye i khronicheskie oslozhneniya [Diabetes: acute and chronic complications]*. Moscow: Medicinskoe informacionnoe agentstvo [in Russian].
2. 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. doi:10.1186/1475-2840-13-99.
3. 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.
4. 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.
5. Lusher, T. F. & Barton, M. (1997). Biology of the endothelium. *Clin Cardiol*, 10(11), 3–10.
6. Ametov, A. S. (2012). *Saharnyj diabet 2 tipa. Problemy i resheniya [Type 2 diabetes mellitus. Problems and Solutions]*. Moscow : GE`OTAR-Media. [in Russian].
7. 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.
8. 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 subclinical complications. *Free Rad Biol Med*, 34(12), 1563–1574. doi: 10.1016/S0891-5849(03)00185-0.
9. Heude, B. (2003). Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes. *Amer J Clin Nutrition*, 77(4), 803–808.
10. Vitkovsky, Yu. A., Kuznick, B. I., Solpov, A. N. (2006). Patogeneticheskoe znachenie limfocitarno-trombocitarnoj adgezii [Pathogenetic significance of lymphocyte-platelet adherence]. *Medicinskaya immunologiya*, 8(5–6), 745–753. [in Russian].
11. Alekseev, V. V. & Karpishchenko, A. I. (2012) *Medicinskie laboratornye tekhnologii. Rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoj diagnostike [Medical laboratory technology. Manual of Clinical Laboratory Diagnostics]*. (Vols. 1–2). Moscow: GE`OTAR-Media. [in Russian].
12. 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.
13. 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 : Methodological Guide]*. Saint Petersburg: Nauka. [in Russian].
14. Medvedev, I. N., Savchenko, A. P., Zavalishina, S. Yu., Krasnova, E. G., Kumova, T. A., Gamolina, O. V., et al. (2009). Metodicheskie podkhody k issledovaniyu reologicheskikh svojstv krovi pri razlichnykh sostoyaniyakh [Methodology of blood rheology assessment in various clinical situations]. *Rossijskij kardiologicheskij zhurnal*, 5, 42–45. [in Russian].
15. 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@dsm.a.dp.ua.

### Сведения об авторе:

Перцева Н.О., к. мед. н., доцент каф. госпитальной терапии №2, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»,  
E-mail: npertseva@dsm.a.dp.ua.

### Information about author:

Pertseva N.O., Ph.D., Associate Professor of Hospital Therapy Department #2 of SU «Dnipropetrovsk Medical Academy of MOH Ukraine»,  
E-mail: npertseva@dsm.a.dp.ua.

Надійшла в редакцію 07.11.2014 р.