

Н. О. Перцева

Кореляції між клініко-лабораторними і морфологічними параметрами ендотеліальної дисфункції та судинно-тромбоцитарного гемостазу у хворих на цукровий діабет 2 типу з артеріальною гіпертензією на тлі поганої компенсації глікемії

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

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

З метою з'ясування і подальшої розробки численних питань щодо зв'язків між ендотеліальною дисфункцією та морфологічним субстратом ушкодження гемостазу, які відзначають при розвитку цукрового діабету 2 типу у поєднанні з артеріальною гіпертензією, у 78 хворих із поганою 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 поганого глікемічного контролю на тлі значного посилення зв'язків між показниками ендотеліальної дисфункції й ушкодженої тромбоцитарної ланки гемостазу утворюються надзвичайно сильні кореляції ультраструктурних характеристик тромбоцитів із клініко-лабораторними ознаками нефропатичних і дисліпідемічних змін.

Корреляции между клинико-лабораторными и морфологическими параметрами эндотелиальной дисфункции и сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у больных сахарным диабетом 2 типа с артериальной гипертензией на фоне плохой компенсации гликемии

Н. О. Перцева

С целью выяснения и дальнейшей разработки многочисленных вопросов о связях между эндотелиальной дисфункцией и морфологическим субстратом повреждения гемостаза, которые наблюдают при развитии сахарного диабета 2 типа в сочетании с артериальной гипертензией, у 78 больных с плохой компенсацией гликемии с помощью клинико-лабораторных, морфологических методов и корреляционного анализа определены связи между эндотелиальной дисфункцией, степенью повреждения функции почек, липидемическим профилем и морфологическими изменениями сосудисто-тромбоцитарного гемостаза. Установлено, что в условиях плохого гликемического контроля на фоне значительного усиления связей между показателями эндотелиальной дисфункции и поврежденного тромбоцитарного звена гемостаза формируются чрезвычайно плотные корреляции ультраструктурных характеристик тромбоцитов с клинико-лабораторными признаками нефропатических и дислипидемических изменений.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, артериальная гипертензия, гемостаз.**Патология.** – 2014. – №3 (32). – С. 22–28

Correlations between clinical, laboratory and morphological parameters of endothelial dysfunction and vascular-platelet hemostasis in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension with poor glycemic compensation

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 78 patients with poor 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 poor glycemic control against the background of significant strengthening relationships between indicators of endothelial dysfunction and damaged platelet hemostasis extremely dense correlations of ultrastructural characteristics of platelets with clinical and laboratory signs of nephropathic and dyslipidemic changes are formed.

Key words: Type 2 Diabetes Mellitus, Hypertension, Hemostasis.**Pathologia.** 2014; №3 (32): 22–28

За умов прогнозованого зростання кількості хворих на цукровий діабет (ЦД) 2 типу в поєднанні з артеріальною гіпертензією (АГ) пошук оптимальних методів контролю АГ та супутніх станів є особливо актуальним [1, 2]. Нині 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 ендотеліну-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 й агрегаційної здатності еритроцитів і тромбоцитів, а також фібринолітичної активності плазми [8].

Гіперліпідемія й дисліпопротеїнемія погіршують реологічні властивості крові, що призводить до вповільнення кровообігу та 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 складжів, 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 розвитку 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 подальшої розробки 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 поганою компенсацією цукрового діабету 2 типу й артеріальною гіпертензією.

Пацієнти і методи дослідження

Клініко-лабораторне і морфологічне дослідження здійснили 78 хворим із поганою компенсацією ЦД 2 типу (концентрація глікованого гемоглобіну вище ніж 8%) і гіпертонічною хворобою з АГ 1–3 ступенів (жінок – 65, чоловіків – 13). Верифікацію діагнозів проводили згідно з наказами МОЗ України №436 від 03.07.2006 р. і №1118 від 21.12.2012 р. Пацієнтів поділили на основну групу (43 особи, середній вік $62,7 \pm 5,5$ року) і групу порівняння (35 осіб, середній вік $58,4 \pm 4,8$ року). В обох групах лікували АГ із застосуванням тiazидоподібних діуретиків, інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту, блокаторів β -адренорецепторів, антагоністів кальцію, які призначали індивідуально в необхідних дозах. До основної групи увійшли пацієнти, у 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 відрізнялись статистично вагомо від показників у хворих клінічних груп. Усі дослідження здійснили згідно з етичними принципами Гельсінської декларації з дозволу комісії з біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України».

Крім загальноклінічного обстеження і визначення рівня глікованого гемоглобіну (HbA1c), досліджували 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 здійснили за рекомендаціями фірм-виробників діагностичних тест-систем, дотримуючись сучасних принципів лабораторних технологій [12]. ШКФ розраховували за формулою MDRD (Modification of Diet in Renal Disease Study). Імуноферментний аналіз маркерів ендотеліальної дисфункції проводили на базі діагностичного центру ТОВ «Аптеки медичної академії» (м. Дніпропетровськ) за допомогою наборів реактивів виробництва «Technoclone GmbH» та «Biomedica Medizinprodukte» (Австрія).

Для ультраструктурного аналізу тромбоцитів фракцію збагаченої тромбоцитами плазми використовували для подальшого дослідження [13]. Для виготовлення епоксидних блоків застосували композицію епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікромомі УМТП-6М («SELMi», Україна). Дослідження здійснили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЭМ-100-01 («SELMi», Україна) при напрузі прискорення 65–90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 80000. Електронномікроскопічне дослідження проводили за стандартною схемою [14]. Вивчали поверхневу цитоархітектуру еритроцитів і тромбоцитів венозної крові за допомогою мікроскопа Люмам И-2 («ЛОМО», Російська Федерація) у режимі фазового контрасту, використовуючи пристрій КФ-5. Морфологічне типування формених елементів крові здійснювали за рекомендаціями [15].

Статистично результати опрацювали на персональному комп'ютері з використанням пакетів ліцензійних програм «Statistica» 6.1 і SPSS 13.0. Визначили вірогідність розходжень між вибірками з урахуванням парного t-критерію Стьюдента, а також непараметричного критерію Вілкоксона у разі відсутності нормального статистичного розподілу. Оцінювали відповідності розподілу величин нормальному (Гауса) за допомогою визначення коефіцієнтів ексцесу та асиметрії з використанням відповідних таблиць. Визначення необхідного

обсягу 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; Δ – 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) з таким визначенням ступеня його статистичної значущості [16].

Результати та їх обговорення

У 78 хворих на ЦД 2 типу з поганою компенсацією глікемії й АГ середній рівень концентрації НbA1c вірогідно перевищував контрольні значення на 91,8% (група порівняння) і на 88,5% (основна група). У кожного з пацієнтів концентрація глікованого гемоглобіну перевищувала 8%, що відповідало критеріям поганої компенсації гіперглікемії. Попередня антигіпертензивна терапія без залучення БРА II дала змогу досягти цільових значень артеріального тиску (АТ) (нижче за 130/80 мм рт.ст.) лише у 25 (31,2%) хворих цього контингенту. Величини САТ позитивно корелювали з концентрацією глікованого гемоглобіну ($r=+0,60$; $p<0,05$) і з рівнем ДАТ ($r=+0,57$; $p<0,05$). У цих хворих вміст НbA1c знаходився у щільному прямому зв'язку з усіма досліджуваними маркерами ендотеліальної функції з високою силою кореляції (від $r=+0,85$ до $r=+0,92$). Також рівень глікованого гемоглобіну вірогідно корелював з усіма показниками функції нирок і параметрами атерогенної тріади дисліпідемії.

Визначення клініко-лабораторних параметрів засвідчило, що при незадовільному глікемічному контролі в основній групі рівні маркерів ендотеліальної дисфункції були різко підвищеними в порівнянні з контрольною групою: ендотеліну-1 – у 12,3 раза, фактора Вілебранда – у 4,5 раза, тромбомодуліну – у 3,7 раза. Аналогічні за ступенем і напрямом зміни спостерігали у групі порівняння (табл. 1).

У пацієнтів із поганою компенсацією ЦД 2 типу й АГ значно зростала сила функціональних зв'язків між ступенем ендотеліальної дисфункції та рівнями НbA1c і САТ, а також визначена вірогідна кореляція з більшістю параметрів, що показують нефропатичні й дисліпідемічні зміни. Найбільш чутливим параметром, що характеризує ушкодження ендотелію, виявився рівень ендотеліну-1, дещо меншою мірою – концентрації фактора Вілебранда і тромбомодуліну.

Клініко-лабораторні дані, що характеризують функцію нирок у групах, суттєво не розрізнялись і свідчили про значні нефропатичні зміни. Зокрема, МАУ виявили у 62 (79,5%) пацієнтів; середній рівень альбумінурії у 6,3 раза (група порівняння) та у 6,5 раза (основна група) перевищував контрольні значення. Макроальбумінурію спостерігали у 7 (9,0%) хворих. Середнє значення ШКФ у пацієнтів групи порівняння на 25,4% ($p<0,05$)

поступалось контрольній величині, у хворих основної групи – на 22,4% ($p<0,05$). Загалом ШКФ була незначно зниженою (60–89 мл/хв) у 49 (62,8%) пацієнтів, помірно зниженою (30–59 мл/хв) – у 9 (11,5%) хворих. Концентрації сечовини і креатиніну у більшості хворих перевищували верхню межу референсного інтервалу (табл. 1). У хворих групи порівняння їхні середні рівні вірогідно перевищували показники групи контролю на 62,1% і 27,1%, у пацієнтів основної групи – на 65,3% і 32,9% відповідно.

Таблиця 1

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

Параметри	Група контролю	Група порівняння	Група основна
НbA1c (%)	4,61 ± 0,23	8,84 ± 0,33*	8,69 ± 0,35*
САТ (мм рт.ст.)	122,5 ± 6,9	141,1 ± 7,4	145,7 ± 8,0
ДАТ (мм рт.ст.)	75,2 ± 7,8	86,4 ± 6,1	89,2 ± 5,9
Ендотелін-1 (фмоль/мл)	0,19 ± 0,06	2,22 ± 0,41*	2,35 ± 0,39*
Фактор Вілебранда (од/мл)	0,63 ± 0,09	2,73 ± 0,38*	2,81 ± 0,34*
Тромбомодулін (нг/мл)	2,62 ± 0,48	9,48 ± 1,71*	9,83 ± 1,63*
Гемоглобін (г/л)	141,2 ± 12,7	133,4 ± 9,6	136,3 ± 11,0
Рівень альбумінурії (мг/л)	8,1 ± 1,3	51,2 ± 6,3*	52,8 ± 8,6*
ШКФ (мл/хв)	98,1 ± 10,8	73,2 ± 10,1*	76,1 ± 6,4*
Сечовина (ммоль/л)	5,62 ± 0,96	9,11 ± 1,36*	9,29 ± 1,60*
Креатинін (ммоль/л)	63,2 ± 8,8	80,3 ± 9,4*	84,0 ± 11,3*
Загальний холестерин (ммоль/л)	4,10 ± 0,62	5,99 ± 0,41*	5,96 ± 0,38*
ЛПВЩ (ммоль/л)	1,61 ± 0,35	1,07 ± 0,29	1,14 ± 0,27
ЛПНЩ (ммоль/л)	2,10 ± 0,41	3,61 ± 0,48*	3,66 ± 0,40*
Тригліцериди (ммоль/л)	1,39 ± 0,18	2,81 ± 0,33*	2,79 ± 0,33*

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

За результатами кореляційного аналізу між показниками функції нирок встановили суттєві зв'язки. Найбільш високі значення коефіцієнтів лінійної кореляції відзначили у парах: МАУ і концентрація сечовини ($r=+0,84$), МАУ і рівень креатиніну ($r=+0,77$), концентрації сечовини і креатиніну ($r=+0,82$). У пацієнтів із рівнем НbA1c вище ніж 8% спостерігали вірогідні зворотні кореляції між ШКФ і всіма показниками функції нирок. Крім того, більшість цих показників знаходилась у щільному кореляційному зв'язку з рівнем глікованого гемоглобіну, значеннями САТ, маркерами ендотеліальної дисфункції і ознаками атерогенної тріади дисліпідемії, що показує активну взаємодію між різними ланками розвитку патології у хворих із поганою компенсацією гіперглікемії.

Аналіз ліпідемічного профілю крові виявив значні статистично вагомі відмінності у пацієнтів із ЦД 2 типу з поганою компенсацією і АГ від середніх значень контрольної групи. Зокрема, середня концентрація загального холестерину в обох клінічних групах на 46,1% ($p<0,05$) перевищувала контрольний рівень, причому у 70 (87,5%)

Стан морфологічних параметрів крові у контрольній групі та у хворих на ЦД 2 типу з поганою компенсацією й АГ, М ± m

Параметри	Група контролю	Група порівняння	Група основна
Неактивовані тромбоцити (%)	75,5 ± 9,3	37,9 ± 3,3*	38,1 ± 3,9*
Агреговані тромбоцити (%)	6,8 ± 0,82	17,9 ± 1,9*	18,4 ± 1,7*
Дегранульовані форми (%)	6,3 ± 1,1	19,3 ± 3,0*	19,9 ± 2,4*
Активовані тромбоцити (%)	24,5 ± 1,9	62,1 ± 7,0*	61,9 ± 5,1*
Альфа-гранули (мкм ³ /мкм ³)	0,108±0,031	0,051±0,012*	0,050±0,008*
Дельта-гранули (мкм ³ /мкм ³)	0,037±0,012	0,024±0,004*	0,023±0,004*
Лямбда-гранули (мкм ²)	0,142±0,037	0,093±0,016*	0,091±0,011*
Мітохондрії (мкм ³ /мкм ³)	0,024±0,008	0,013±0,003*	0,013±0,002*
Дискоцити (%)	83,4 ± 4,8	53,6 ± 2,9*	52,8 ± 2,4*
Дискоєхіноцити (%)	11,6 ± 4,2	31,7 ± 4,1*	30,9 ± 3,7*
Сфероцити (%)	2,91 ± 0,70	10,32 ± 1,33*	11,10 ± 2,42*
Сфероєхіноцити (%)	1,68 ± 0,33	3,18 ± 0,52*	3,09 ± 0,56*
Біполярні тромбоцити (%)	0,53 ± 0,18	1,06 ± 0,15*	1,12 ± 0,13*
Активні тромбоцити (%)	16,6 ± 2,2	41,0 ± 4,6*	40,4 ± 4,9*
Малі тромбоцитарні агрегати	3,10 ± 0,71	14,7 ± 1,67*	14,5 ± 1,72*
Великі тромбоагрегати	0,17 ± 0,02	4,31 ± 0,60*	4,36 ± 0,55*
Нормальні еритроцити (%)	87,53 ± 0,94	82,30 ± 1,57*	82,24 ± 1,39*
Зворотно змінені (%)	9,52 ± 0,87	14,29 ± 0,96*	14,32 ± 0,83*
Незворотно змінені (%)	2,74 ± 0,19	3,41 ± 0,35*	3,44 ± 0,23*

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

активованих тромбоцитів (r=+0,84). На відміну від групи хворих з якісним глікемічним контролем у цих пацієнтів посилювались або утворювались вірогідні кореляційні зв'язки вмісту тромбоцитарних лямбда-гранул і мітохондрій із більшістю показників внутрішньосудинної активації тромбоцитів.

У складі збагаченої тромбоцитами фракції крові при проведенні фазово-контрастної мікроскопії спостерігали статистично вагоме зниження вмісту нормальних дископодібних тромбоцитів у групі порівняння (на 35,7%) і основній клінічній групі пацієнтів (на 36,7%) унаслідок різкого зростання кількості дискоєхіноцитів (у 2,7 раза), сфероцитів (у 3,8 раза) і сфероєхіноцитів (у 1,9 раза), що призводило до 2,5-разового підвищення вмісту активних форм. У хворих із поганою компенсацією гіперглікемії концентрація малих тромбоцитарних агрегатів крові в середньому у 4,7 раза перевищувала значення контрольної групи; визначили різке (у 25,6 раза) перевищення контрольних значень вмісту середніх і великих тромбоцитарних агрегатів, а також підвищення вмісту зворотно

пацієнтів спостерігали перевищення цільових значень, що передбачені рекомендаціями ESC (2007). Концентрація холестерину ЛПВЩ унаслідок широкого варіювання статистично вагомо не відрізнялась від контрольних величин. Підвищення рівня холестерину ЛПНЩ було вірогідним: у групі порівняння – на 71,9%, в основній групі – на 74,3%. При визначенні величини тригліцеридів крові у хворих із поганою компенсацією гіперглікемії спостерігали 2-разове перевищення конт-рольного рівня в обох клінічних групах (табл. 1).

Результати кореляційного аналізу показали вірогідний позитивний зв'язок між всіма параметрами ліпідемічного профілю, а також між цими параметрами і більшістю інших досліджуваних клініко-лабораторних характеристик. У хворих із рівнем HbA1c понад 8% різко зростала сила позитивного зв'язку ступеня гіперглікемії з концентраціями загального холестерину (r=+0,73; p<0,05), холестерину ЛПНЩ (r=+0,87; p<0,05) і тригліцеридів (r=+0,80; p<0,05). Привертало увагу утворення щільної кореляції між параметрами ліпідного обміну і показниками ендотеліальної дисфункції. Зокрема, найбільша сила прямої кореляції визначена між рівнями ендотеліну-1 і холестерину ЛПНЩ (r=+0,81), тромбоцитуліну і загального холестерину (r=+0,80), тромбоцитуліну і тригліцеридів (r=+0,83), що свідчить про щільну взаємодію між патогенетичними ланками, які зумовлюють поглиблення ендотеліальної дисфункції, нефропатичних і дисліпідемічних порушень у хворих із поганою компенсацією гіперглікемії.

Морфологічний аналіз формених елементів крові у хворих на ЦД 2 типу з поганою компенсацією й АГ виявив різку активацію тромбоцитів із залученням лейкоцитів різних типів. Зокрема, частка активованих тромбоцитів зростала більш ніж 2,5-разово у порівнянні з контрольними значеннями, перевищуючи вміст неактивованих клітин (табл. 2).

В обох клінічних групах спостерігали значне зростання кількості агрегованих форм: у групі порівняння – у 2,6 раза, в основній групі – у 2,7 раза. Дегранульовані тромбоцити за відносним вмістом у 3,1 раза (група порівняння) та у 3,2 раза (основна група) перевищували показник групи контролю шляхом вивільнення альфа- і дельта-гранул, а також вірогідного зменшення вмісту лізосом і мітохондрій.

Встановлена наявність вірогідних зв'язків значної сили між більшістю ультраструктурних параметрів, що характеризують стан тромбоцитарного гемостазу в пацієнтів із концентрацією глікованого гемоглобіну вище ніж 8%. Найбільш сильні зворотні кореляції встановлювали між вмістом неактивованих і агрегованих тромбоцитів (r=-0,89), щільністю впакування альфа-гранул і вмістом агрегованих (r=-0,86), дегранульованих (r=-0,89) і активованих тромбоцитів (r=-0,83), вмістом дельта-гранул і рівнем дегранульованих клітин (r=-0,82). Прямі кореляції значно посилювались у таких парах: агреговані і дегранульовані тромбоцити (r=+0,93), агреговані й активовані клітини (r=+0,95), вміст альфа-гранул і не-

і незворотно трансформованих еритроцитів як у групі порівняння (на 50,1% і 24,5% відповідно; $p < 0,05$), так і в основній клінічній групі – на 50,4% і 25,5% ($p < 0,05$) відповідно.

За даними кореляційного аналізу, у хворих виявили тісний прямий зв'язок між концентрацією малих тромбоцитарних агрегатів і вмістом агрегованих ($r = +0,89$) та активованих тромбоцитів ($r = +0,70$), посилювалась зворотна кореляція із часткою неактивованих форм ($r = -0,73$) та щільністю впакування альфа-гранул, утворювались вірогідні кореляційні зв'язки із вмістом дельта- і лямбда-гранул ($r = -0,67$ і $r = -0,60$ відповідно). У цього контингенту хворих визначили наявність вірогідних зв'язків між вмістом середніх і великих агрегатів та більшістю ультраструктурних параметрів тромбоцитарного гемостазу. Поряд з різко підвищеним рівнем цих агрегатів та залученням до їхнього складу змінених лейкоцитів і еритроцитів ця обставина свідчить про суттєву патогенетичну роль агрегатоутворення у розвитку судинно-тромбоцитарних запальних та деструктивних ушкоджень.

При визначенні взаємозв'язку між комплексом клініко-лабораторних параметрів, що характеризують стан ендотеліальної функції, функції нирок, ліпідемічного профілю у хворих на ЦД 2 типу й АГ із результатами

ультраструктурного аналізу тромбоцитарної ланки гемостазу, одержали низку суттєвих розрізень у структурі кореляційних зв'язків у групах пацієнтів із різним рівнем компенсації гіперглікемії. Зокрема, у хворих із незадовільним глікемічним контролем вміст неактивованих тромбоцитів мав високу силу зворотного зв'язку з усіма досліджуваними маркерами ендотеліальної дисфункції у межах від $r = -0,74$ до $r = -0,84$ ($p < 0,05$), а також встановлював вірогідну кореляцію з більшістю клініко-лабораторних параметрів за винятком рівнів ДАТ, гемоглобіну і холестерину ЛПВЩ (рис. 1).

Визначили суттєве підвищення прямої взаємозалежності між ступенем агрегаційної здатності тромбоцитів і рівнями глікованого гемоглобіну ($r = +0,86$), ендотеліну-1 ($r = +0,95$), фактора Вілебранда ($r = +0,91$) і тромбомодуліну ($r = +0,88$). Також частка агрегованих тромбоцитів значно підсилювала кореляційний зв'язок із більшістю показників функції нирок (найщільніший із них – із МАУ ($r = +0,81$)) і встановлювала вірогідні прямі кореляції з параметрами атерогенної тріади дисліпідемії. Аналогічну за напрямом і структурою кореляційну матрицю виявили при розрахунку коефіцієнтів лінійної кореляції відносно дегранульованих і активованих форм тромбоцитів (рис. 1).

Параметри	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
1	-0,62	+0,86	+0,77	+0,89	-0,83	-0,62	-0,57	+0,21	+0,88	+0,55
2	-0,50	+0,53	+0,49	+0,72	-0,56	-0,31	+0,20	-0,11	+0,69	+0,38
3	-0,32	+0,28	+0,35	+0,52	-0,26	-0,35	+0,16	-0,07	+0,51	+0,56
4	-0,74	+0,95	+0,87	+0,82	-0,77	-0,85	-0,55	-0,62	+0,78	+0,62
5	-0,84	+0,91	+0,74	+0,82	-0,66	-0,70	+0,63	+0,28	+0,59	+0,51
6	-0,80	+0,88	+0,92	+0,77	-0,53	-0,78	-0,61	-0,31	+0,80	+0,64
7	+0,13	-0,03	+0,10	+0,36	+0,26	+0,13	+0,06	+0,23	+0,08	+0,24
8	-0,61	+0,81	+0,74	+0,87	-0,57	-0,52	-0,37	-0,31	+0,77	+0,62
9	+0,53	-0,35	-0,22	-0,69	+0,24	+0,12	+0,09	+0,33	-0,68	-0,50
10	-0,57	+0,76	+0,61	+0,53	-0,15	-0,26	+0,03	-0,25	+0,73	+0,32
11	+0,51	+0,70	+0,56	+0,71	-0,21	-0,38	-0,12	+0,08	+0,54	+0,29
12	-0,64	+0,50	+0,57	+0,76	-0,70	-0,33	+0,17	-0,05	+0,34	+0,25
13	-0,21	+0,11	+0,18	+0,12	+0,23	-0,13	+0,16	+0,21	+0,30	+0,22
14	-0,75	+0,61	+0,78	+0,76	-0,78	-0,84	-0,51	+0,06	+0,51	+0,67
15	-0,67	+0,59	+0,83	+0,61	-0,59	-0,63	-0,34	-0,27	+0,69	+0,55

Рис. 1. Кореляційні зв'язки між клініко-лабораторними і морфологічними параметрами у хворих на ЦД 2 типу з поганою 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 ($p < 0,05$).

У хворих з поганою компенсацією гіперглікемії значення щільності упакування альфа- і дельта-гранул тромбоцитів знаходились у щільному оборотному зв'язку з рівнями HbA1c, САТ, ендотеліну-1, тригліцеридів. У пацієнтів спостерігали зворотну кореляцію вмісту альфа- і дельта-гранул із концентраціями фактора Вілебранда ($r=-0,66$ і $r=-0,53$ відповідно; $p<0,05$) та тромбомодуліну ($r=-0,70$ і $r=-0,78$ відповідно; $p<0,05$), а також посилювалась сила зв'язків із рівнем холестерину ЛПНЩ. Щільність упакування мітохондрій, незважаючи на суттєво знижений рівень у порівнянні з контролем, не встановлювала суттєвих кореляційних зв'язків із більшістю клініко-лабораторних параметрів. Лише з рівнем ендотеліну-1 виявили зворотну кореляцію ($r=-0,62$). Різке підвищення агрегаційної активності тромбоцитів у хворих із поганою глікемічною компенсацією, що виявлялось у надзвичайно суттєвому зростанні вмісту середніх та великих агрегатів, встановлювало вірогідну кореляцію з рівнем глікованого гемоглобіну ($r=+0,55$) і величинами ДАТ ($r=+0,56$), а також з концентраціями всіх досліджуваних маркерів ендотеліальної дисфункції (від $r=+0,51$ до $r=+0,62$), рівнями альбумінурії ($r=+0,62$) і ШКФ ($r=-0,50$), холестерину ЛПНЩ ($r=+0,60$) і тригліцеридів ($r=+0,55$).

Висновки

1. У хворих на ЦД 2 типу з АГ із поганою компенсацією гіперглікемії вміст маркерів ушкодження ендотелію виходить за межі відповідних референсних інтервалів

і перевищує їхні контрольні значення у 12,3 раза (ендотеліну-1), у 4,5 раза (фактор Вілебранда) і у 3,7 раза (тромбомодулін).

2. При рівні глікованого гемоглобіну вище ніж 8% на тлі значного посилення зв'язків між показниками ендотеліальної дисфункції й ушкодженої тромбоцитарної ланки гемостазу спостерігають вірогідні кореляції ультраструктурних характеристик тромбоцитів із клініко-лабораторними ознаками нефропатичних і дисліпідемічних змін.

3. Серед них у хворих з поганою компенсацією гіперглікемії найбільшої сили набувають кореляційні зв'язки у таких парах: агреговані тромбоцити і рівень альбумінурії, агреговані тромбоцити і концентрація сечовини, дегранульовані тромбоцити і вміст холестерину ЛПНЩ, дегранульовані тромбоцити і вміст тригліцеридів, активовані тромбоцити і рівень альбумінурії, вміст альфа-гранул і рівень холестерину ЛПНЩ, вміст малих тромбоцитарних агрегатів і рівень альбумінурії, що показує посилення інтеграції провідних патогенетичних ланок за умов декомпенсації гіперглікемії.

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні впливу тривалої цукрознижувальної та антигіпертензивної терапії на структуру взаємозв'язків між клініко-лабораторними і морфологічними параметрами ендотеліальної дисфункції та тромбоцитарного гемостазу у хворих із поганою 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.
- Epstein M. Diabetes and hypertension: the bad companions / M. Epstein // J. Hypertension. – 1997. – Vol. 15. – Suppl. 2. – P. 55–62.
- 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.
- 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. – №5. – С. 745–752.
- 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.
- 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. – №5. – С. 42–45.
- 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

- Dedov, I. I. & Shestakova, M. V. (Eds.) (2011) *Sakharnyy diabetes: ostrye i khronicheskie oslozhneniya [Diabetes: acute and chronic complications]*. Moscow: Medicinskoe informacionnoe agentstvo [in Russian].
- Epstein, M. (1997) Diabetes and hypertension: the bad companions. *Hypertension*, 15(2), 55–62.
- Torimoto, K., Okada, Y., Mori, H. & Tanaka, Y. (2013) Re-

- lationship 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: 10.1186/1475-2840-12-1.
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) *Sakharnyj 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 subclinical 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. Vitkovsky, Yu. A., Kuznik, B. I. & Solpov, A. V. (2006) Patogeneticheskoe znachenie limfocitarno-trombocitarnoj adgezii [Pathogenetic significance of lymphocyte-platelet adhesion]. *Medicinskaya immunologiya*, 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, Ya. Yu. & Mironov, V. A. (1994) *Metody e'lektronnoj mikroskopii v biologii i medicine [Electron microscopy methods in biology and medicine]*. Saint Petersburg: Nauka. [in Russian].
 15. Medvedev, I. N., Savchenko, A. P. & Zavalishina, S. Yu. (2009) Metodicheskie podkhody k issledovaniyu reologicheskikh svoystv krovi pri razlichnykh sostoyaniyakh [Methodology of blood rheology assessment in various clinical situations]. *Rossiyskij 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.

Надійшла в редакцію 06.11. 2014 р.