

**Н.О.Перцева**

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

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

Надійшла: 17.10.2016

Прийнята: 10.12.2016

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2016.4.53-59>

УДК 616.155.1-008.64:616.1-06

## **ВЗЄМОЗВ'ЯЗОК ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ ТА ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ З ДОБРОЮ КОМПЕНСАЦІЄЮ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ І АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ**

**Реферат.** Потребують з'ясування і подальшої розробки численні питання щодо зв'язків між ендотеліальною дисфункцією та морфологічним субстратом ушкодження гемостазу, що відбуваються при розвитку цукрового діабету 2 типу у поєднанні з артеріальною гіпертензією. У 69 хворих даного контингенту з доброю компенсацією глікемії за допомогою клініко-лабораторних, морфологічних методів і кореляційного аналізу було визначено зв'язки між ендотеліальною дисфункцією, ступенем ушкодження функції нирок, ліпідемічним профілем і морфологічними змінами судинно-тромбоцитарного гемостазу. Встановлено, що за умов якісного глікемічного контролю морфологічні критерії пошкодження тромбоцитарного гемостазу чітко корелюють з маркерами ендотеліальної дисфункції, проте не виявляють істотних взаємозв'язків з показниками функції нирок і ліпідного спектру крові.

**Morphologia.** – 2016. – Т. 10, № 4. – С. 53-59.

© Н.О.Перцева, 2016

✉ [npertseva@dsma.dp.ua](mailto:npertseva@dsma.dp.ua)

**Pertseva N.O. Relationship between endothelial function and platelet hemostasis in patients with a good compensation of type 2 diabetes mellitus and hypertension.**

**ABSTRACT. Background.** Disorders of hemostasis in patients with arterial hypertension and diabetes mellitus type 2 are complex: growing aggregative activity of platelets and red blood cells, activation and degranulation of platelet antiaggregatory potential endothelium; reduced anticoagulant and fibrinolytic activity of blood. **Objective.** The aim of this study is to determine the relationships between endothelial dysfunction, the degree of renal function damage, lipidemic profile and morphological changes of vascular-platelet hemostasis in patients with good compensation of type 2 diabetes mellitus and arterial hypertension. **Methods.** In 69 patients with good glycemic compensation using clinical, laboratory, morphological methods and correlational analysis were identified association between endothelial dysfunction, degree of renal function damage, lipidemic profile and morphological changes of vascular-platelet hemostasis. **Results.** Results of correlation analysis showed the presence of credible negative relation between the content of unactivated platelets and concentrations of endothelin-1 ( $r=-0.53$ ;  $p<0.05$ ), von Willebrand factor ( $r=-0.68$ ;  $p<0.05$ ) and thrombomodulin ( $r=-0.55$ ;  $p<0.05$ ). The largest number and strength of correlations between morphological indicators of intravascular platelet activation and studied clinical and laboratory parameters were observed with admiration to the activated and aggregated forms of cells. In particular, elevated levels of activated platelets in patients of this contingent had reliable high degree of direct correlation with the content of glycated hemoglobin ( $r=+0.79$ ), systolic blood pressure ( $r=+0.63$ ), the concentration of endothelial dysfunction markers, including the level of albuminuria ( $r=+0.73$ ), as well as with the values of total cholesterol ( $r=+0.64$ ) and low density lipoprotein cholesterol ( $r=+0.79$ ). On the level of endothelin-1 and thrombomodulin concentration was found positive linear correlation, but alpha-granules located in shut inverse correlation not only with endothelin-1 ( $r=-0.57$ ;  $p<0.05$ ), as well as with the concentration of glycated hemoglobin ( $r=-0.76$ ;  $p<0.05$ ) and with dyslipidemic changes. Increased platelet aggregation activity in patients with good glycemic compensation, which was manifested in a twofold increase in the content of circulating small units was significantly correlated with the level of glycated hemoglobin ( $r=+0.66$ ) and the values of systolic blood pressure ( $r=+0.58$ ), as well as concentrations of markers of endothelial dysfunction and renal function, but did not have any significant relationships with blood lipids in patients of this contingent. **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, arterial hypertension, endothelial dysfunction, platelet hemostasis, relationship.

### **Citation:**

Pertseva NO. [Relationship between endothelial function and platelet hemostasis in patients with a good compensation of type 2 diabetes mellitus and hypertension]. *Morphologia*. 2016;10(4):53-9. Ukrainian.

## Вступ

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

При ендотеліальній дисфункції, для якої характерно порушення всіх 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 [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 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 [7].

Гіперліпідемія й дисліпопротеїнемія погіршують реологічні властивості крові, що веде до порушення кровообігу й посилення агрегації тромбоцитів. Однією з патогенетичних ланок змін реологічного статусу крові є дестабілізація еритроцитів і тромбоцитів, що виникає при ЦД внаслідок неензиматичного глікування білків, ослаблення антиоксидантних систем та активації перекисного окислення в мембрані клітин [8]. Деендотелізація судин з оголенням базальної мембрани й нагромадження продуктів розпаду клітин, фібрину, еритроцитарних сладжів, продуктів гемолізу еритроцитарних речовин і 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 носять фрагментарний характер і стосуються переважно впливу окремих факторів: гіперхолестеринемії, гіперглікемії, високої напруги 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 і подальшої розробки ті численні питання, які пов'язані з аналізом зв'язку між ендотеліальною дисфункцією та морфологічним субстратом uszkodження гемостазу, що відбуваються при розвитку даної патології та її ускладнень.

**Метою** даного дослідження є визначення

зв'язків між ендотеліальною дисфункцією, ступенем uszkodження функції нирок, ліпідемічним профілем і морфологічними змінами судинно-тромбоцитарного гемостазу у хворих з доброю компенсацією цукрового діабету 2 типу і артеріальною гіпертензією.

## Матеріали та методи

Клініко-лабораторне і морфологічне дослідження проведено у 69 хворих з доброю компенсацією ЦД 2 типу (концентрація глікованого гемоглобіну до 7%) і гіпертонічною хворобою з АГ 1-3 ступенів (жінок – 54, чоловіків – 15). Верифікацію діагнозів проводили згідно наказів МОЗ України №436 від 03.07.2006 р. і №1118 від 21.12.2012 р. Пацієнти були розподілені на основну групу (37 осіб, середній вік 63,7±5,1 років) і групу порівняння (32 особи, середній вік 60,6±5,5 років). В обох групах лікування АГ проводили із застосуванням тіазидоподібних діуретиків, інгібіторів ангіотензінперетворюючого фермента, блокаторів β-адренорецепторів, антагоністів кальцію, що призначалися індивідуалізовано у необхідних дозах. До основної групи увійшли пацієнти, у яких в антигіпертензивній терапії був використаний 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. Всі дослідження проводили у відповідності 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), проводили дослідження таких спеціальних клініко-лабораторних параметрів: 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 фірмовиробників діагностичних тест-систем на ґрунті сучасних принципів лабораторних технологій [11]. 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 тромбоци-

тів фракцію збагаченої тромбоцитами плазми використовували для подальшого дослідження у відповідності з рекомендаціями [12]. Для виготовлення епоксидних блоків використовували композицію епон-аралдіт. Ультратонкі зрізи отримували на ультрамікромомі 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. Електронномікроскопічне дослідження проводили за стандартною схемою [13]. Вивчення поверхневої цитоархітекtonіки еритроцитів і тромбоцитів венозної крові проводили за допомогою мікроскопа Люмам И-2 («ЛМОМ», Росія) у режимі фазового контрасту при використанні пристрою КФ-5. Морфологічне типування формених елементів крові здійснювали за [14].

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

Парний кореляційний аналіз проводили на основі обчислення коефіцієнта лінійної кореляції Пірсона (нормальний розподіл) або коефіцієнта рангової кореляції Спірмена (асиметричний розподіл) з наступним визначенням ступеня його статистичної значущості [15].

#### Результати та їх обговорення

Клініко-лабораторне дослідження показало, що концентрація HbA1c у пацієнтів з доброю компенсацією ЦД 2 типу і АГ достовірно перевищувала середній показник групи контролю, проте у всіх хворих рівень параметра не виходив за межі 7%, що свідчило про добру компенсацію глікемії. Серед 69 пацієнтів даного контингенту цільові значення артеріального тиску (АТ) (нижче за 130/80 мм.рт.ст.) спостерігалися у 49 (71,0%) хворих, причому значення САТ (на відміну від ДАТ) позитивно корелювали з концентрацією глікованого гемоглобіну ( $r=+0,55$ ;  $p<0,05$ ). Це супроводжувалось достовірним зростанням концентрацій ендотеліну-1, фактора Вілебранда і тромбомодуліну, що характеризують ступінь ендотеліальної дисфункції (табл. 1).

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

У більшості хворих означені три параметри не виходили за межі референсного діапазону, але суттєво перевищували середні значення групи контролю. Зокрема, в обох групах хворих ЦД 2

типу і АГ концентрація ендотеліну-1 більш ніж 4-разово перевищувала контрольний рівень, рівень фактора Вілебранда – майже втричі, концентрація тромбомодуліну у 2,7 рази (група порів-

няння) і 2,8 рази (основна група) перебільшувала відповідні контрольні значення. Враховуючи той факт, що тромбомодулін у нормі надійно пов'язаний з мембраною ендотеліальних клітин і практично відсутній у циркуляції, є підстави інтерпретувати його підвищення у хворих досліджуваного контингенту (поряд із зростанням рівнів ендотеліну-1 і фактора Вілебранда) як свідчення розвинутої ендотеліальної дисфункції навіть за умов якісного глікемічного контролю.

За допомогою кореляційного аналізу встановлено, що рівні кожного з зазначених показників ендотеліальної дисфункції мали достовірний позитивний зв'язок між собою, а також з концентрацією глікованого гемоглобіну. Рівень HbA1c достовірно корелював з величинами САТ, альбуміурії, концентрацією ЛПНЩ. Також прямий кореляційний зв'язок виявлявся між вмістом ендотеліну-1 і тромбомодуліну та величинами САТ, що віддзеркалює тісну патогенетичну взаємозалежність між характером ушкодження ендотелію та ефективністю попередньої антигіпертензивної терапії у даного контингенту хворих зі стажем АГ  $10,1 \pm 1,9$  років у групі порівняння та  $13,2 \pm 2,1$  років в основній клінічній групі.

Клініко-лабораторні дані, що характеризують функцію нирок у пацієнтів з ЦД 2 типу і АГ, свідчили про помірні нефропатичні зміни у даних хворих. Зокрема, МАУ спостерігалась у 24 (34,8%) пацієнтів, а середній рівень альбуміурії у 3,2 рази (група порівняння) та у 3,6 рази (основна група) перевищував контрольні значення. Макроальбуміурія не була зафіксована 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 (див. табл. 1).

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

Найбільш тісні зв'язки виявлялися між величинами альбуміурії і 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 на те, що альбуміурія досягала рівня 20 мг/л лише у 34,8% хворих з доброю компенсацією глікемії, чітка кореляція даного параметра з маркерами ендоте-

ліальної дисфункції вказує на його роль не лише як показника ниркової функції, а й чутливого індикатора ушкодження ендотелію за умов якісного контролю глікемії у даних пацієнтів.

Аналіз ліпідемічного профілю крові не виявив значних статистично вагомих відрізень у пацієнтів з ЦД 2 типу з доброю компенсацією і АГ від середніх значень контрольної групи, за виключенням 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. Проте слід зауважити, що у більшості обстежуваних спостерігалася тенденція до зростання концентрації загального холестерину вище цільових значень, а також підвищення ступеня тригліцеридемії на тлі зниження концентрації холестерину ЛПВЩ.

Результати кореляційного аналізу виявили достовірний позитивний зв'язок вмісту загального холестерину з холестерином ЛПНЩ, зворотну кореляцію – з холестерином ЛПВЩ. Також тісний негативний зв'язок спостерігався між концентраціями холестерину ЛПВЩ і ЛПНЩ ( $r=-0,68$ ;  $p<0,05$ ); значна позитивна кореляція зв'язувала ці обидва параметри з рівнем тригліцеридемії, відображаючи атерогенну триаду дисліпідемії у хворих на ЦД 2 типу. Звертало на себе увагу існування значної кореляції 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 у пацієнтів з АГ навіть за умов доброї компенсації глікемії. Це припущення підтверджувалось наявністю достовірного 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 і АГ за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії та фазово-контрастної мікроскопії виявив суттєву активацію тромбоцитів із залученням лейкоцитів різних типів. Зокрема, частка активованих тромбоцитів зростала більш ніж удвічі і перевищувала вміст неактивованих клітин (табл. 2). В обох досліджуваних клінічних групах спостерігалось 2-разове зростання кількості агрегованих форм. Дегранульовані тромбоцити за відносним вмістом у 2,7 рази (група порівняння) та у 2,9 рази (основна група) перевищували показник групи контролю за рахунок вивільнення переважно альфа-гранул, які у своєму складі поміж численних білкових молекул містять фібриноген і фактор Вілебранда.

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

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

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

На тлі тісних кореляційних зв'язків між вмістом активованих, дегранульованих і агрегованих тромбоцитів щільність упакування альфа-гранул також чітко корелювала з характеристиками внутрішньосудинної активації тромбоцитів. Вміст дельта-гранул за рахунок значного варіювання їх кількості в грануломері тромбоцитів не відрізнявся статистично вагомо від показників контрольної групи, проте кореляційний аналіз виявив їх достовірний зворотній зв'язок з 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 утримання дельта-гранул у тромбоплазмі, що запобігає вивільненню неметаболічного АТФ, АДФ, серотоніну і кальцію у кров за умов доброї компенсації глікемії. З іншого боку, наведені результати вказують на підвищений рівень напруги гранулярного апарату тромбоцитів, що безпосередньо відповідає за реалізацію тромбоцитарного гемостазу.

Дане припущення підтвердилося при проведенні фазово-контрастної мікроскопії збагаченої тромбоцитами фракції крові. Зокрема, у хворих на ЦД 2 типу з доброю компенсацією і АГ спостерігалось істотне зниження вмісту нормальних дископодібних тромбоцитів у групі порівняння (на 21,8%; p<0,05) і основній клінічній групі пацієнтів (на 24,2%; p<0,05) за рахунок різкого зростання кількості дискоехіноцитів, сфероцитів і сфероехіноцитів, що призводило до дворазового підвищення вмісту активних клітин. Крім того, у хворих досліджуваного контингенту встановлено

пропорційне зростання у циркуляції малих тромбоцитарних агрегатів, кількість яких знаходилась у тісному зв'язку з параметрами, що були отримані за допомогою методу електронної мікроскопії. Кількісна оцінка вмісту зворотно і незворотно трансформованих еритроцитів також не виявила суттєвих змін у даного контингенту хворих у порівнянні з групою контролю.

Один з найважливіших аспектів даної 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, з результатами ультраструктурного аналізу тромбоцитарної ланки гемостазу. З цією метою у дослідженні визначені коефіцієнти парної лінійної кореляції між означеними показниками, які наведені у кореляційній матриці на рис. 1.

Результати кореляційного аналізу показали наявність достовірного зворотного зв'язку між вмістом неактивованих тромбоцитів та 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). Найбільша кількість і сила кореляцій між морфологічними показниками внутрішньосудинної активації тромбоцитів і досліджуваними клініко-лабораторними параметрами спостерігалась щодо активованих і агрегованих форм клітин.

Представлений спектр взаємозв'язків свідчить про тісну взаємодію між змінами функції ендотелію, ліпідемічним профілем і показниками

внутрішньосудинної активації тромбоцитів, проте у хворих з доброю компенсацією глікемії найбільш чутливими до патогенетичних зсувів та першими, що вступають в їх реалізацію і взаємо-

діють між собою, виявлялися підвищення рівнів маркерів ендотеліальної дисфункції та активація тромбоцитів переважно в напрямку підвищення їх агрегаційної здатності.

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. 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 вагомий коефіцієнти лінійної кореляції ( $p < 0,05$ ).

Дегранульовані форми тромбоцитів, не дивлячись на значно підвищений рівень у порівнянні з контрольною групою, не встановлювали достовірних кореляційних зв'язків з більшістю клініко-лабораторних параметрів. Лише з рівнем ендотеліну-1 та концентрацією тромбомодуліну було виявлено позитивну лінійну кореляцію, проте вміст альфа-гранул знаходився в тісній зворотній кореляції не лише з ендотеліном-1 ( $r = -0,57$ ;  $p < 0,05$ ), а також з концентрацією HbA1c ( $r = -0,76$ ;  $p < 0,05$ ) та більшістю показників ліпідного профілю.

Підвищення агрегаційної активності тромбоцитів у хворих з доброю глікемічною компенсацією, що виявлялося у дворазовому зростанні вмісту циркулюючих малих агрегатів, достовірно корелювало з рівнем глікованого гемоглобіну ( $r = +0,66$ ) і величинами САТ ( $r = +0,58$ ), а також з концентраціями маркерів ендотеліальної.

#### Висновки

1. У хворих на ЦД 2 типу з АГ з доброю

компенсацією гіперглікемії ендотеліальна функція зазнає суттєвого ушкодження ще до появи клініко-лабораторних ознак порушення функції нирок і дисліпідемічних розладів, що супроводжується вірогідним зростанням концентрації ендотеліну-1 (більш ніж у 4 рази) та майже 3-разовим підвищенням вмісту фактора Вілебранда і тромбомодуліну у порівнянні з контрольною групою.

2. У хворих з доброю компенсацією гіперглікемії відбувається достовірне збільшення відносного вмісту активованих тромбоцитів на 58,4-61,3% зі збереженням нормального вмісту агрегованих і дегранульованих форм та появою поодиноких тромбоцитів з 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 з маркерами ендотеліальної дисфункції, проте не виявляють істотних взаємозв'язків

з показниками функції нирок і ліпідного спектру 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 гемостаза у хворих з доброю компенсацією ЦД.

#### Літературні джерела References

1. Shilov AM. Gipertenziya i reologiya krovi [Hypertension and blood rheology]. Moscow: BARS; 2005. 328 p. Russian.
2. Torimoto K, Okada Y, Mori H, Tanaka Y. Relationship between fluctuations in glucose levels measured by continuous glucose monitoring and vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;13:18-24.
3. Blair P. Platelet  $\alpha$ -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Rev*. 2009;23(4):177-89.
4. Demirtunc R, Duman D, Basar M. The relationship between glycemic control and platelet activity in type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Complications*. 2009;23(2):89-94.
5. Barkis GL. Pathogenesis of hypertension in diabetes. *Diabetes Rev*. 1995;3:460-76.
6. Vaskina EA, Tsirendorzhiyev DD, Demina LM. Rol neytrofilov i prooksidantnogo potentsiala krovi v razvitii endotelialnoy disfunktsii pri arterialnoy gipertenzii [Role of neutrophils and pro-oxidant capacity of the blood in the development of endothelial dysfunction in hypertension]. *Bulletin SO RAMN*. 2003;2:107-12. Russian.
7. Mathewkutty S, McGuire DK. Platelet perturbations in diabetes: implications for cardiovascular disease risk and treatment. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2009;7(5):541-9.
8. Martin-Gallan P, Carrascosa A, Gussinye M, Dominguez C. Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Rad Biol Med*. 2003;34(12):1563-74.
9. Heude B. Cognitive decline and fatty acid composition of erythrocyte membranes. *Amer J Clin Nutrition*. 2003;77(4):803-8.
10. Vitkovskiy YuA, Kuznik BI, Solpov AV. [Pathogenetic significance of lymphocyte-platelet adhesion]. *Medical immunology*. 2006;5:745-52. Russian.
11. Alekseev VV, Karpishchenko AI. [Medical laboratory technology. Manual of Clinical Laboratory Diagnostics]. Moscow: GEOTAR-Media; 2006. 386 p. Russian.
12. Sawatzke CL, Solomons CC. Fixation and embedding of small volumes of platelets for transmission electron microscopy. *J Clin Pathol*. 1980;33(6):600-2.
13. Mironov AA, Komissarchik YuYa, Mironov VA. *Metody elektronnoy mikroskopii v biologii i meditsine: Metodicheskoe rukovodstvo*. [Electron microscopy methods in biology and medicine : Methodological Guide]. St. Petersburg: Science; 1994. 400 p. Russian.
14. Medvedev IV, Kumova TA. Oslablenie agregatsionnoy sposobnosti trombocytov u bolnykh arterialnoy gipertoniei pri metabolicheskom sindrome na fone lozartana. [Weakening aggregability platelets in hypertensive patients with metabolic syndrome on a background of losartan]. *Russ J Cardiol*. 2008;5:53-5. Russian.
15. Lakin GF. *Biometriya* [Biometrics: 4th ed.]. Moscow : Vysshaya shkola; 1990. 352 p. Russian.

#### **Перцева Н.О. Взаимосвязь эндотелиальной функции и тромбоцитарного гемостаза у больных с хорошей компенсацией сахарного диабета 2 типа и артериальной гипертензией.**

**Реферат.** Требуется 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 69 больных данного контингента с хорошей 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 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, тромбоцитарный гемостаз, взаимосвязь.