

Н.О.Перцева

ГУ «Днепропетровская
медицинская академия
МЗ Украины»

Ключевые слова: са-
харный диабет 2 типа,
артериальная гипертен-
зия, тромбоцитарный
гемостаз, ультраструк-
тура.

Надійшла: 09.10.2015

Прийнята: 12.11.2015

УДК 616.155.1-008.64:616.1-06

МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СУБСТРАТ ПО- ВРЕЖДЕНИЯ ТРОМБОЦИТАРНОГО ГЕ- МОСТАЗА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Реферат. Целью данного исследования явилось определение морфологических изменений форменных элементов крови у больных сахарным диабетом 2 типа с артериальной гипертензией. Показано, что внутрисосудистая гиперактивация тромбоцитов, дисбаланс содержания всех типов гранул, трансформация поверхностной цитоархитектоники эритроцитов и формирование тромбоцитарных агрегатов выявляются у всех пациентов данного контингента, что выступает в роли раннего предиктора развития болезни.

Morphologia. – 2015. – Т. 9, № 4. – С. 57-65.

© Н.О.Перцева, 2015

✉ npertseva@dsma.dp.ua

Pertseva N.O. Morphological substrate of platelet hemostasis damage in patients with 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 purpose of this study was to determine the morphological changes of blood cells in patients with type 2 diabetes mellitus with hypertension. **Methods.** Ultrastructural analysis of platelets was performed in 60 patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension and 5 volunteers – healthy individuals (control group). **Results.** The degree of alteration of platelet hemostasis depends on the quality level of glycemic control and albuminuria. Patients with optimal glycemic control, there is significantly increased relative content of activated platelets with preservation of normal and degranulated content aggregated forms and the appearance of individual platelets with alpha and delta granules imbalance. In patients with albuminuria and poor glycemic control has been a sharp violation of platelet hemostasis due to significant increase of the content of activated, degranulated and aggregated platelets release the contents of the majority of the granules, the development of intravascular hyperactivation of platelets, increasing the number of reversibly and irreversibly transformed erythrocytes, including the appearance of platelet-leukocyte aggregates. **Conclusion.** Morphological substrate of platelet hemostasis damage in patients with type 2 diabetes mellitus with hypertension is complex of ultrastructural changes of blood cells: intravascular platelet hyperactivation, an imbalance content of all types of granules, transformation of the red blood surface architecture, and the formation of different composition and size of platelet aggregates. This complex is found in all patients of this contingent and acts as an early predictor of the disease. The most sensitive quantitative characteristics of this complex is the relative content of activated and aggregated platelets, packing density of alpha- and delta-granules, level of inversely transformed red blood cells, the number of platelet aggregates.

Key words: diabetes mellitus type 2, arterial hypertension, platelet hemostasis, ultrastructure.

Citation:

Pertseva NO. [Morphological substrate of platelet hemostasis damage in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension]. *Morphologia*. 2015;9(4):57-65. Russian.

Введение

Профилактика микро- и макрососудистых осложнений у больных сахарным диабетом (СД) 2 типа в сочетании с артериальной гипертензией (АГ) заключается в интенсивной коррекции многих расстройств, важнейшими из которых являются дисфункция эндотелия [1, 2] и нарушения сосудисто-тромбоцитарного гемостаза [3-5].

Важную роль в патогенезе диабетических нарушений играют изменения системы гемостаза

и повреждения реологических функций – эндотелия сосудов, тромбоцитов, фибринолиза и гемокоагуляции [6]. Выраженные гемореологические дефекты определяются уже на ранних стадиях диабетической ангиопатии и характеризуются повышением вязкости крови, плазмы и агрегационной способности эритроцитов и тромбоцитов, а также фибринолитической активности плазмы [7]. Показано, что в циркуляции происходит постоянное образование агрегатов из

тромбоцитов, эритроцитов, лейкоцитов, а также конгломератов, возникающих благодаря взаимодействию отдельных клеток крови между собой [4]. По данным морфологических исследований, у больных СД в первую очередь определяются нарушения структуры и функции тромбоцитов и эритроцитов. Гипергликемия и сопутствующие изменения метаболизма при СД вызывают аномалии как внутриэритроцитарных, так и мембранных обменных процессов.

Патогенез коагулопатического синдрома при СД остается недостаточно изученным. Гипергликемия и диспротеинемия повышают агрегационную способность тромбоцитов и эритроцитов. Гиперлипидемия и дислипидпротеинемия ухудшают реологические свойства крови, ведут к замедлению кровообращения и усилению агрегации тромбоцитов и эритроцитов [8]. У больных СД существенно повышена внутрисосудистая активация тромбоцитов, снижена антиагрегантная активность стенки сосудов, что приводит к появлению в сосудистом русле тромбоцитарных и более массивных по клеточному составу агрегатов с последующим нарушением микроциркуляции [9, 10].

Итак, востребованными остаются выяснение и дальнейшая разработка тех многочисленных вопросов, которые связаны с анализом морфологического субстрата внутриклеточных процессов и межклеточных взаимодействий, происходящих при развитии данной патологии и ее осложнений.

Целью данного исследования явилось определение морфологических изменений форменных элементов крови у больных СД 2 типа с АГ.

Материалы и методы

Морфологическое исследование проводили у 60 больных СД 2 типа с сопутствующей АГ и у 5 волонтеров – практически здоровых лиц контрольной группы. Оценка результатов проводили дифференцированно по подгруппам в зависимости от уровня гликированного гемоглобина (оптимальный, субоптимальный, плохой гликемический контроль) и с учетом наличия или отсутствия микроальбуминурии (МАУ).

Для ультраструктурного анализа тромбоцитов фракцию обогащенной тромбоцитами плазмы использовали для дальнейшего исследования в соответствии с рекомендациями [11]. Для изготовления эпоксидных блоков использовали композицию эпон-аралдит. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме УМТП-6М ("SELMI", Украина). Исследования проводились с помощью трансмиссионного электронного микроскопа ПЭМ-100-01 ("SELMI", Украина) при ускоряющем напряжении 65-90 кВ и первичных увеличениях от 2000 до 80000. В целом, электронномикроскопическое исследование проводили по стандартной схеме [12, 13].

Изучение поверхностной цитоархитектони-

ки эритроцитов и тромбоцитов венозной крови проводили с помощью микроскопа Люмам И-2 («ЛЮМО», Россия) в режиме фазового контраста при использовании устройства КФ-5. Морфологическое типирование форменных элементов крови осуществляли по рекомендациям [14].

При статистической обработке результатов применяли пакеты лицензионных статистических программ STATISTICA 6.1 и SPSS 13.0. При сравнении исследуемых клинических групп по изученным показателям (в зависимости от их типа статистических распределений) использовались парный t-критерий Стьюдента или его непараметрический аналог – критерий Уилкоксона.

Оценку соответствия распределения величин нормальному (Гаусса) проводили с помощью определения коэффициентов эксцесса и асимметрии при использовании соответствующих таблиц [15].

Результаты и их обсуждение

У больных СД 2 типа с оптимальным гликемическим контролем и АГ дегранулированные тромбоциты по относительному содержанию в 2,9 раза превышали показатель группы контроля за счет высвобождения преимущественно альфа-гранул, доля активированных и агрегированных тромбоцитов более чем двукратно превышала контрольные значения (табл. 1). В составе тромбоцитарного пула больных с нормальбуминурией выявлялись лишь единичные формы клеток с заметным дисбалансом альфа- и дельта-гранул, а также изменениями в содержании лизосом и ультраструктуре митохондрий. Фрагменты тромбоцитов и псевдоподии наблюдались в небольшом количестве. У подавляющего большинства пациентов морфология хромомера тромбоцитов свидетельствовала о незначительной степени нарушений тромбоцитарного гемостаза (рис. 1).

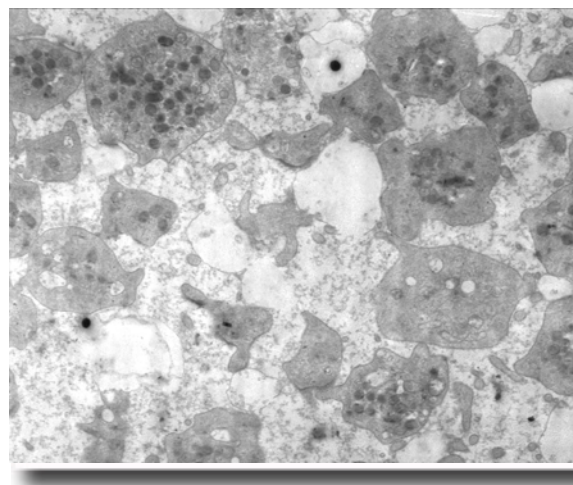


Рис. 1. Ультраструктура тромбоцитов крови больной СД 2 типа с оптимальным гликемическим контролем и АГ с нормальбуминурией. Электронограмма. $\times 10000$.

Состояние морфологических параметров форменных элементов крови в контрольной группе и у больных СД 2 типа с оптимальным гликемическим контролем и АГ, М ± m

Параметры	Группа контроля	Основная клиническая группа
Неактивированные тромбоциты (%)	75,5 ± 9,3	45,4 ± 4,7*
Агрегированные тромбоциты (%)	6,8 ± 0,82	14,4 ± 2,4*
Дегранулированные тромбоциты (%)	6,3 ± 1,1	17,0 ± 2,8*
Активированные тромбоциты (%)	24,5 ± 1,9	54,6 ± 5,2*
Альфа-гранулы (мкм ³ /мкм ³)	0,108 ± 0,031	0,071 ± 0,021*
Дельта-гранулы (мкм ³ /мкм ³)	0,037 ± 0,012	0,030 ± 0,018
Лямбда-гранулы (мкм ²)	0,142 ± 0,037	0,105 ± 0,022
Митохондрии (мкм ³ /мкм ³)	0,024 ± 0,008	0,016 ± 0,007
Дискоциты (%)	83,4 ± 4,8	63,2 ± 4,0*
Дискоэхиноциты (%)	11,6 ± 4,2	23,8 ± 3,5*
Сфероциты (%)	2,91 ± 0,70	6,05 ± 1,13*
Сферозхиноциты (%)	1,68 ± 0,33	2,81 ± 0,61*
Биполярные тромбоциты (%)	0,53 ± 0,18	0,78 ± 0,16
Активные тромбоциты (%)	16,6 ± 2,2	36,5 ± 3,7*
Малые тромбоцитарные агрегаты	3,10 ± 0,71	6,25 ± 1,44*
Большие тромбоцитарные агрегаты	0,17 ± 0,02	0,20 ± 0,04
Нормальные эритроциты (%)	87,53 ± 0,94	85,26 ± 3,13
Обратимо измененные эритроциты (%)	9,52 ± 0,87	11,78 ± 0,97
Необратимо измененные эритроциты (%)	2,74 ± 0,19	2,96 ± 0,26

Примечание: * – достоверное отличие от группы контроля (p < 0,05).

У больных с МАУ отмечались значительные патологические изменения тромбоцитов, которые сопровождались существенным гетероморфностью тромбоцитарного пула по его функциональной гиперактивности и изменениям структуры хромомера большинства тромбоцитов. Указанные изменения свидетельствовали о том, что при качественной компенсации гликемии, но при наличии МАУ, развивается гиалиновый тип морфологической трансформации тромбоцитов (рис. 2, 3).

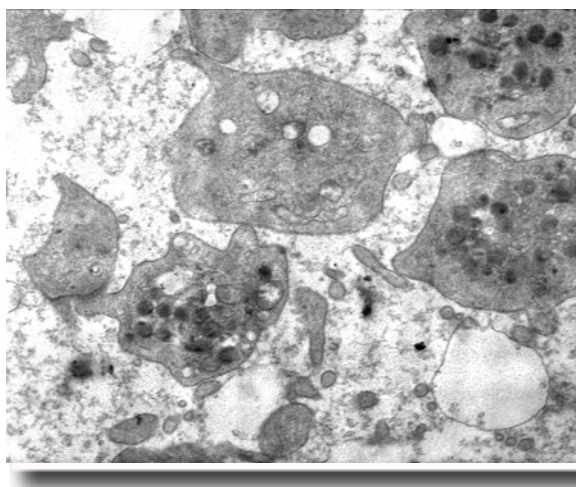


Рис. 2. Ультраструктура форменных элементов крови больной СД 2 типа с оптимальным гликемическим контролем и АГ с МАУ. Электронограмма. ×15000.

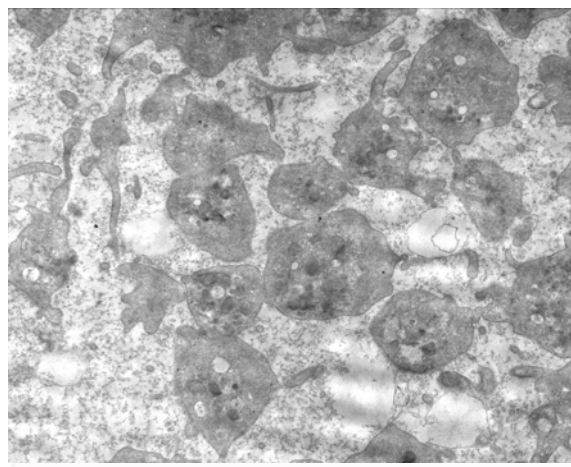


Рис. 3. Ультраструктура тромбоцитов крови больного СД 2 типа с оптимальным гликемическим контролем и АГ с нормальбуминурией. Электронограмма. ×10000.

Определение морфологии циркулирующих агрегатов крови выявило наличие значительного количества функционально активных полиморфноядерных лейкоцитов в составе агрегатов с развитыми псевдоподиями, многочисленными фагосомами и их комплексами со специфическими и неспецифическими гранулами. Наряду с этим, присутствие незрелых форм нейтрофилов подтверждало наличие как эндотелиальной дисфункции, так и активного внутриклеточного вос-

паления. О развитии воспалительного процесса свидетельствовала также значительная доля активированных эозинофилов в составе тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов. Такие эозинофилы наряду со зрелыми гранулами и характерным кристаллоидом высокой электронной плотности содержали полиморфные зерна значительно меньших размеров вблизи ядра.

Встречались также частично дегранулированные клетки с остатками лабильных гранул под цитолеммой. Следует отметить, что наряду со значительным повышением доли агрегированных тромбоцитов наблюдалось наличие больших сферических форм с новообразованными псевдоподиями, признаками дестабилизации наружной мембраны и существенным расширением открытой канальцевой системы. Глубокие участки этой системы содержали аморфный материал умеренной электронной плотности. Количество плотных телец значительно превышало содержание альфа-гранул.

У больных СД 2 типа с оптимальным гликемическим контролем и АГ наблюдалось существенное снижение содержания нормальных дисковидных тромбоцитов относительно контроля (на 24,2%; $p < 0,05$) за счет резкого нарастания количества дискоэхиноцитов, сфероцитов и сфероэхиноцитов, что приводило к двукратному

повышению содержания активных клеток. Кроме того, установлено пропорциональное нарастание в циркуляции малых тромбоцитарных агрегатов. У больных с качественным гликемическим контролем образования больших тромбоцитарных агрегатов не наблюдалось. Морфология лейкоцитов не отличалась от нормальной. Количественная оценка содержания обратимо и необратимо трансформированных эритроцитов также не выявила существенных изменений у данного контингента больных по сравнению с группой контроля.

У больных СД 2 типа с субоптимальным гликемическим контролем и АГ были обнаружены значительная активация тромбоцитарного звена гемостаза, повреждение тинкториальных свойств эритроцитов с вовлечением в патологический процесс лейкоцитов различных типов. Доля активированных тромбоцитов в данной группе больных превышала уровень контрольной группы почти в 2,5 раза (табл. 2). Также резко повышенным оказался уровень агрегированных и дегранулированных форм. За счет этого содержание неактивированных тромбоцитов крови уступало контрольному показателю на 45,2% ($p < 0,05$). Образование дегранулированных форм происходило преимущественно за счет высвобождения альфа-гранул.

Таблица 2
Состояние морфологических параметров форменных элементов крови в контрольной группе и у больных СД 2 типа с субоптимальным гликемическим контролем и АГ, $M \pm m$

Параметры	Группа контроля	Основная клиническая группа
Неактивированные тромбоциты (%)	75,5 ± 9,3	41,2 ± 4,3*
Агрегированные тромбоциты (%)	6,8 ± 0,82	17,1 ± 1,9*
Дегранулированные тромбоциты (%)	6,3 ± 1,1	18,6 ± 2,2*
Активированные тромбоциты (%)	24,5 ± 1,9	58,8 ± 7,6*
Альфа-гранулы ($\text{мкм}^3/\text{мкм}^3$)	0,108±0,031	0,064±0,009*
Дельта-гранулы ($\text{мкм}^3/\text{мкм}^3$)	0,037±0,012	0,028 ± 0,007
Лямбда-гранулы (мкм^{-2})	0,142±0,037	0,108 ± 0,031
Митохондрии ($\text{мкм}^3/\text{мкм}^3$)	0,024±0,008	0,013±0,003*
Дискоциты (%)	83,4 ± 4,8	57,8 ± 6,1*
Дискоэхиноциты (%)	11,6 ± 4,2	26,1 ± 2,7*
Сфероциты (%)	2,91 ± 0,70	6,19 ± 0,8*
Сфероэхиноциты (%)	1,68 ± 0,33	2,83 ± 0,37*
Биполярные тромбоциты (%)	0,53 ± 0,18	0,91 ± 0,18
Активные тромбоциты (%)	16,6 ± 2,2	41,6 ± 4,5*
Малые тромбоцитарные агрегаты	3,10 ± 0,71	11,42 ± 1,39*
Большие тромбоцитарные агрегаты	0,17 ± 0,02	2,40 ± 0,19*
Нормальные эритроциты (%)	87,53 ± 0,94	83,93 ± 2,02
Обратимо измененные эритроциты (%)	9,52 ± 0,87	12,96 ± 0,90*
Необратимо измененные эритроциты (%)	2,74 ± 0,19	3,11 ± 0,26*

Примечание: * – достоверное отличие от группы контроля ($p < 0,05$).

Степень указанных патоморфологических изменений в значительной степени зависела от уровня альбуминурии. В составе тромбоцитарно-

го пула крови у больных с нормальбуминурией выявлялось ограниченное количество тромбоцитов с существенным дисбалансом альфа- и дель-

та-гранул, а также изменениями в содержании лизосом и ультраструктуре митохондрий. Фрагменты тромбоцитов и псевдоподии наблюдались в умеренном количестве. У подавляющего большинства пациентов морфология хромомера тромбоцитов свидетельствовала об ограниченно развитой степени нарушений тромбоцитарного гемостаза (рис. 4).

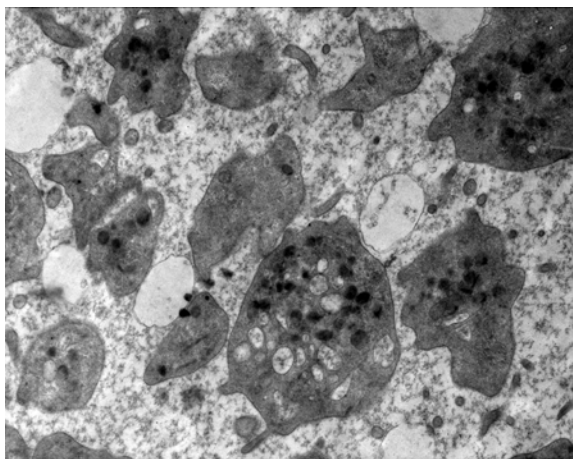


Рис. 4. Ультраструктура тромбоцитов крови больной СД 2 типа с субоптимальным гликемическим контролем и АГ с нормальбуминурией. Электронограмма. $\times 10000$.

Напротив, у больных при наличии МАУ отмечались значительные патологические изменения тромбоцитов, которые сопровождались существенной гетероморфностью тромбоцитарного пула по его функциональной гиперактивности и изменениям структуры хромомера большинства тромбоцитов на фоне их морфологической трансформации по гиалиновому типу (рис. 5, 6).

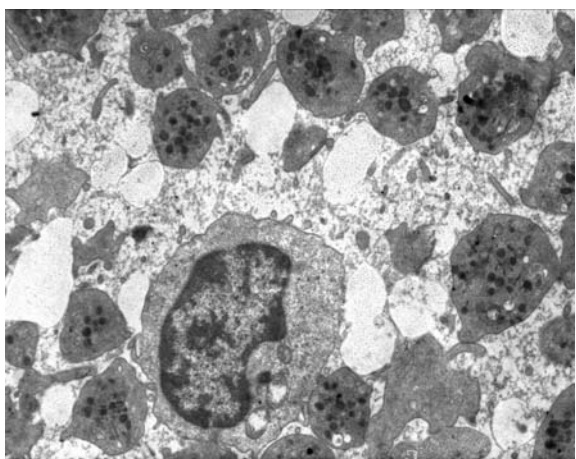


Рис. 5. Ультраструктура форменных элементов крови больной СД 2 типа с субоптимальным гликемическим контролем и АГ с МАУ. Электронограмма. $\times 6000$.

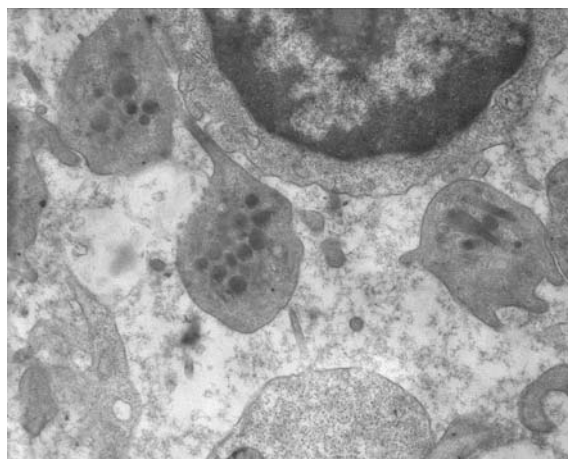


Рис. 6. Ультраструктура тромбоцитов крови больной СД 2 типа с субоптимальным гликемическим контролем и АГ с МАУ. Электронограмма. $\times 10000$.

В частности, наблюдались многочисленные циркулирующие агрегаты крови с наличием значительного количества функционально активных полиморфноядерных лейкоцитов в составе агрегатов с развитыми псевдоподиями, многочисленными фагосомами и их комплексами со специфическими и неспецифическими гранулами. Исследование выявило незначительное содержание лейкоцитов в сложных тромбоцитарных агрегатах, причем среди них преобладали нейтрофильные гранулоциты. Их морфология свидетельствовала о существенно повышенной функциональной активности: цитоплазма клеток характеризовалась гетероморфностью, клетки имели многочисленные псевдоподии, количество фагосом и их комплексов со специфическими и неспецифическими гранулами была увеличенной, выявлялись незрелые нейтрофилы.

Единичные эозинофильные гранулоциты проявляли признаки гиперактивации за счет образования развитых псевдоподий, значительной деформируемости, определенной редукции оргanelл общего назначения. Специфические эозинофильные гранулы располагались с незначительной плотностью, часто на периферии клеток и свидетельствовали об их зрелости. Итак, наряду с изменениями нейтрофилов, характерными для эндотелиальной дисфункции, признаки гиперактивации эозинофилов указывали на развитие значительного внутрисосудистого воспаления, а их относительно небольшое количество в составе агрегатов – на ограничение участия эозинофилов как адаптивного регулятора воспаления и как агента внеклеточного фибринолиза. Кроме того, в отличие от морфологии циркулирующих агрегатов у пациентов с нормальбуминурией, сложные агрегаты у больных с МАУ содержали значительное количество эритроцитов, среди которых преобладали необратимо трансформированные формы – куполообразные и сфероциты, а

также эритроциты в виде спущенного мяча.

По данным фазово-контрастной микроскопии, количество малых тромбоцитарных агрегатов в 3,7 раза превышало показатель группы контроля. Кроме того, у больных данного контингента обнаруживались средние и крупные агрегаты, которые в ряде случаев содержали отдельные лейкоциты и эритроциты. При ультраструктурном исследовании дегранулированных тромбоцитов вблизи цитолеммы оказывались многочисленные лабильные гранулы с дефрагментированными мембранами. Такие постклеточные формы, в отличие от агрегированных тромбоцитов, преимущественно встречались вне состава агрегатов. Также наблюдалось появление больших сферических форм с наличием новообразованных псевдоподий на поверхности, признаками дестабилизации наружной мембраны и существенным расширением открытой канальцевой системы. Глубокие участки этой системы содержали аморфный материал умеренной электронной плотности. Количество плотных телец превышало содержание альфа-гранул, лизосомы и митохондрии наблюдались в значительно меньшем количестве по сравнению с интактными тромбоцитами.

У больных СД 2 типа с недостаточным гли-

кемическим контролем и АГ наблюдалось статистически значимое снижение содержания нормальных дисковидных тромбоцитов за счет резкого нарастания количества дискоэхиноцитов, сфероцитов и сфероэхиноцитов, что приводило к двукратному повышению содержания активных клеток. Также установлено резкое нарастание в циркуляции малых тромбоцитарных агрегатов и тромбоагрегатов средних и больших размеров (в 14,1 раза) по сравнению с контрольными значениями.

Морфологический анализ форменных элементов крови у больных с плохим гликемическим контролем обнаружил резкую активацию тромбоцитов с участием лейкоцитов различных типов. В частности, доля активированных тромбоцитов повышалась более 2,5-кратно по сравнению с контрольными значениями, преобладая над содержанием неактивированных клеток. Наблюдался значительный рост количества агрегированных форм – в 2,7 раза. Дегранулированные тромбоциты по относительному содержанию в 3,2 раза превышали показатель группы контроля за счет высвобождения альфа-гранул и дельта-гранул, а также достоверного уменьшения содержания лизосом и митохондрий (табл. 3).

Таблица 3
Состояние морфологических параметров форменных элементов крови в контрольной группе и у больных СД 2 типа с плохим гликемическим контролем и АГ, М ± m

Параметры	Группа контроля	Основная клиническая группа
Неактивированные тромбоциты (%)	75,5 ± 9,3	38,1 ± 3,9*
Агрегированные тромбоциты (%)	6,8 ± 0,82	18,4 ± 1,7*
Дегранулированные тромбоциты (%)	6,3 ± 1,1	19,9 ± 2,4*
Активированные тромбоциты (%)	24,5 ± 1,9	61,9 ± 5,1*
Альфа-гранулы (мкм ³ /мкм ³)	0,108 ± 0,031	0,050 ± 0,008*
Дельта-гранулы (мкм ³ /мкм ³)	0,037 ± 0,012	0,023 ± 0,004*
Лямбда-гранулы (мкм ²)	0,142 ± 0,037	0,091 ± 0,011*
Митохондрии (мкм ³ /мкм ³)	0,024 ± 0,008	0,013 ± 0,002*
Дискоциты (%)	83,4 ± 4,8	52,8 ± 2,4*
Дискоэхиноциты (%)	11,6 ± 4,2	30,9 ± 3,7*
Сфероциты (%)	2,91 ± 0,70	11,10 ± 2,42*
Сфероэхиноциты (%)	1,68 ± 0,33	3,09 ± 0,56*
Биполярные тромбоциты (%)	0,53 ± 0,18	1,12 ± 0,13*
Активные тромбоциты (%)	16,6 ± 2,2	40,4 ± 4,9*
Малые тромбоцитарные агрегаты	3,10 ± 0,71	14,5 ± 1,72*
Большие тромбоцитарные агрегаты	0,17 ± 0,02	4,36 ± 0,55*
Нормальные эритроциты (%)	87,53 ± 0,94	82,24 ± 1,39*
Обратимо измененные эритроциты (%)	9,52 ± 0,87	14,32 ± 0,83*
Необратимо измененные эритроциты (%)	2,74 ± 0,19	3,44 ± 0,23*

Примечание: * – достоверное отличие от группы контроля (p < 0,05).

В целом, в составе тромбоцитарного пула больных с нормальбуминурией выявлялись многочисленные тромбоциты с заметным дисбалансом альфа- и дельта-гранул, а также изменения-

ми в содержании лизосом и ультраструктуре митохондрий. В значительном количестве встречались фрагменты тромбоцитов и развитые псевдоподии на поверхности клеток. У большинства

пациентов морфология хромомера тромбоцитов свидетельствовала о выраженной степени нарушений тромбоцитарного гемостаза (рис. 7).

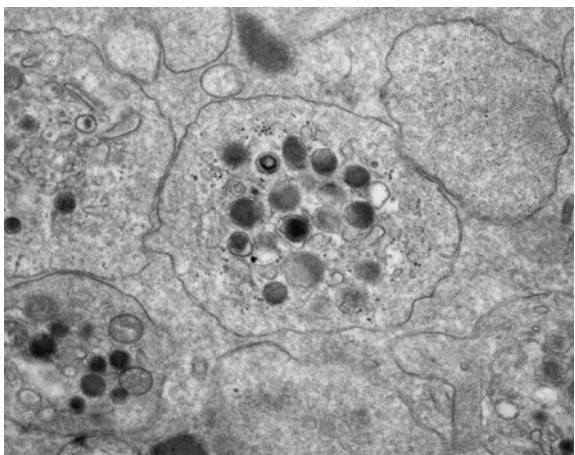


Рис. 7. Ультраструктура тромбоцитов крови больной СД 2 типа с плохим гликемическим контролем и АГ с нормальбуминурией. Электронограмма. $\times 18000$.

У больных с МАУ отмечались резкие патологические изменения тромбоцитов, которые сопровождалась существенной гетероморфностью тромбоцитарного пула по его функциональной гиперактивности и изменениям структуры хромомера абсолютного большинства тромбоцитов на фоне их ограниченной способности образовывать псевдоподии (рис. 8, 9).

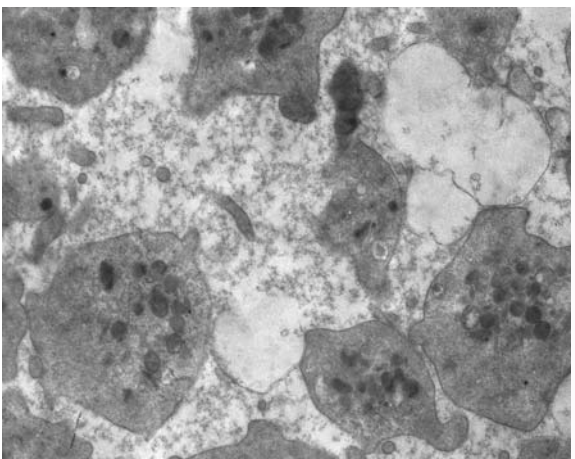


Рис. 8. Ультраструктура тромбоцитов крови больной СД 2 типа с плохим гликемическим контролем и АГ с МАУ. Электронограмма. $\times 15000$.

Определялся повышенный уровень агрегатообразования, причем по своей морфологии большие по размерам циркулирующие агрегаты соответствовали структуре сложных образований, содержащих эритроциты и различные типы лейкоцитов. В частности, значительное количество функционально активных нейтрофилов с

полиморфными ядрами и с развитыми псевдоподиями, многочисленными фагосомами их комплексами с тромбоцитарными гранулами свидетельствовали об активном внутрисосудистом воспалительном процессе. На развитие воспалительного процесса у пациентов с плохим гликемическим контролем гипергликемии указывала также значительная часть активированных эозинофилов и существенная примесь эритроцитов в составе агрегатов.

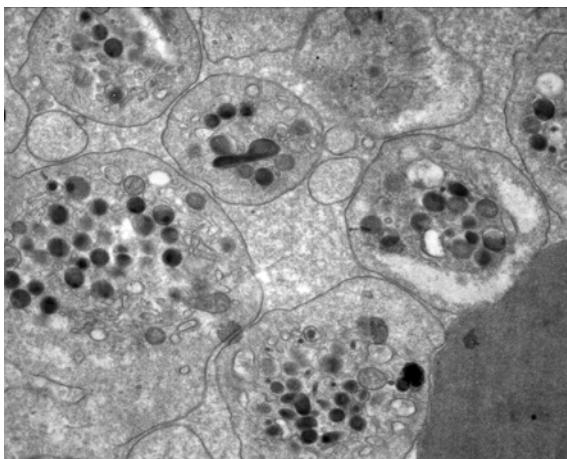


Рис. 9. Состояние форменных элементов крови больной СД 2 типа с плохим гликемическим контролем и АГ с МАУ. Электронограмма. $\times 20000$.

Часто наблюдались также частично дегранулированные клетки с остатками лабильных гранул. Наряду со значительно повышенным уровнем агрегированных тромбоцитов наблюдалось появление больших сферических форм с псевдоподиями и признаками дестабилизации внешней мембраны. Мембраны канальцев часто были фрагментированными, цитолемма тромбоцитов утрачивала целостность в участках, которые контактировали с другими клетками в составе агрегатов.

Наблюдалось статистически значимое снижение содержания нормальных дисковидных тромбоцитов (на 36,7%) за счет резкого роста количества дискоэхиноцитов (в 2,7 раза), сфероцитов (в 3,8 раза) и сфероэхиноцитов (в 1,9 раза), что приводило к 2,5-кратному повышению содержания активных форм. У больных с плохим гликемическим контролем концентрация малых тромбоцитарных агрегатов крови в среднем в 4,7 раза превышала значение контрольной группы. У данных больных наблюдалось резкое (в 25,6 раза) превышение контрольных значений содержания средних и больших тромбоцитарных агрегатов. Также наблюдалось повышение содержания обратимо и необратимо трансформированных эритроцитов – на 50,4% и 25,5% ($p < 0,05$) соответственно.

Таким образом, морфологическим субстра-

том повреждения тромбоцитарного гемостаза у больных СД 2 типа с АГ выступает комплекс ультраструктурных изменений клеток крови: 1) внутрисосудистая гиперактивация тромбоцитов, 2) дисбаланс содержания всех типов их гранул, 3) трансформация поверхностной цитоархитектоники эритроцитов и 4) образование различных по составу и размерам тромбоцитарных агрегатов. Данный комплекс выявляется у всех без исключения пациентов данного контингента и выступает в роли раннего предиктора развития болезни. Наиболее чувствительными количественными характеристиками указанного комплекса является относительное содержание активированных и агрегированных тромбоцитов, плотность упаковки альфа- и дельта-гранул, уровень обратимо трансформированных эритроцитов, количество тромбоцитарных агрегатов.

Выводы

1. Степень альтерации тромбоцитарного гемостаза зависит от качества гликемического контроля и уровня альбуминурии. У больных с оптимальным гликемическим контролем происходит достоверное увеличение относительного содержания активированных тромбоцитов с сохранением нормального содержания агрегированных и дегранулированных форм и появлением единичных тромбоцитов с дисбалансом альфа- и дельта-гранул. У пациентов с МАУ отмечается значительное повреждение тромбоцитарного гемостаза за счет достоверного нарастания со-

держания активированных, дегранулированных и агрегированных тромбоцитов и развития гиперактивации тромбоцитов по гиалиновому типу.

2. У больных с субоптимальным и плохим гликемическим контролем нарушения тромбоцитарного гемостаза заключаются в достоверном увеличении относительного содержания активированных тромбоцитов (на 126,9-135,9%) с повышением содержания агрегированных и дегранулированных форм и появлением многочисленных тромбоцитов с дисбалансом альфа- и дельта-гранул, а также редукцией митохондрий (на 25,3-28,0%).

3. У пациентов с МАУ и плохим гликемическим контролем отмечается резкое нарушение тромбоцитарного гемостаза за счет достоверного нарастания содержания активированных, дегранулированных и агрегированных тромбоцитов, высвобождения содержимого большинства гранул, развития внутрисосудистой гиперактивации тромбоцитов, увеличения количества обратимо и необратимо трансформированных эритроцитов, повышения уровня агрегатообразования, в том числе появления сложных тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов.

Перспективы дальнейших исследований связаны с анализом внутриклеточных реакций тромбоцитов, лейкоцитов и эритроцитов у больных СД и АГ с высоким кардиоваскулярным риском.

Литературные источники 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. Woodman PG, Futter CE. Multivesicular bodies: co-ordinated progression to maturity. *Curr Opin Cell Biol*. 2008;20:408-14.
4. Blair P. Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Rev*. 2009;23(4):177-89.
5. 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.
6. Barkis GL. Pathogenesis of hypertension in diabetes. *Diabetes Rev*. 1995;3:460-76.
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. Vaskina EA, Tsirendorzhev 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.
9. Sowers JR, Sowers PS, Peuler JD. Role of insulin resistance and hyperinsulinemia in development of hypertension and atherosclerosis. *J Lab Clin Med*. 1994;23:647-52.
10. Italiano JE, Richardson JL, Patel-Hett S. Angiogenesis is regulated by a novel mechanism: pro- and antiangiogenic proteins are organized into separate platelet alpha-granules and differentially released. *Blood*. 2008;111:1227-33.
11. Sawatzke CL, Solomons CC. Fixation and embedding of small volumes of platelets for transmission electron microscopy. *J Clin Pathol*. 1980;33(6):600-2.
12. 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.

13. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc. 2007. 608 p.

14. Medvedev IV, Kumova TA. Oslablenie agregatsionnoy sposobnosti trombocitov u bolnykh

arterialnoy gipertoniey pri metabolicheskom sindrome na fone losartana. [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. Морфологічний субстрат ушкодження тромбоцитарного гемостазу у хворих на цукровий діабет 2 типу з артеріальною гіпертензією.

Реферат. Метою даного дослідження було визначення морфологічних змін формених елементів крові у хворих на цукровий діабет 2 типу з артеріальною гіпертензією. Показано, що внутрішньосудинна гіперактивація тромбоцитів, дисбаланс вмісту всіх типів гранул, трансформація поверхневої цитоархітектоніки еритроцитів і формування тромбоцитарних агрегатів виявляються у всіх пацієнтів даного контингенту, що виступає в ролі раннього предиктора розвитку хвороби.

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