

12. Dimopoulos G, Matthaïou, DK Karageorgopoulos DE. Short-versus long-course antibacterial therapy for community-acquired pneumonia: a meta-analysis. *Drugs*. 2008;68(13):1841–54.

13. Hedlund J, Hansson LO. Procalcitonin and C-reactive protein levels in community-acquired pneumonia: correlation with etiology and prognosis. *Infection*. 2000;28:68-73.

14. Liapikou A, Ferrer M, Polverino E. Severe Community-Acquired Pneumonia: Validation of the Infectious Diseases Society of America. American Thoracic Society

Guidelines to Predict an Intensive Care Unit Admission. *Clin Infect Diseases*. 2009;48:377-85.

15. Mira J-P, Max A, Burgel P-R. The role of biomarkers in community-acquired pneumonia: predicting mortality and response to adjunctive therapy. *Critical Care*. 2008;12:1-7.

16. Patrick GP, Wolfe R, Whitby M. SMART-COP: A Tool for Predicting the Need for Intensive Respiratory or Vasopressor Support in Community-Acquired Pneumonia. *Clin Infect Diseases*. 2008;47(3):375–84.



УДК 616.12-008.331.1:616.379-008.64-08:612.1:57.012.4:576.31

**Н.О. Перцева,
Т.С. Турлюн**

ВПЛИВ ЛОЗАРТАНУ НА УЛЬТРАСТРУКТУРНУ МОРФОЛОГІЮ ФОРМЕННИХ ЕЛЕМЕНТІВ КРОВІ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ ТА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра факультетської терапії та ендокринології
(зав. – член-кор. НАМН України, д. мед. н., проф. Т.О. Перцева)
Дніпропетровськ, 49044, Україна
SE "Dnipropetrovsk medical academy Ministry of Health of Ukraine"
facultative therapy and endocrinology department
Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine
e-mail: turlyunt@gmail.com*

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, цукровий діабет 2-го типу, ультраструктура тромбоцитів і лейкоцитів, лозартан

Key words: arterial hypertension, diabetes mellitus type 2, ultrastructure of platelets and white blood cells, losartan

Реферат. Влияние лозартана на ультраструктурную морфологию форменных элементов крови у пациентов с сахарным диабетом и артериальной гипертензией. Перцева Н.О., Турлюн Т.С. Определены ультраструктурные изменения форменных элементов крови у пациентов с артериальной гипертензией 1-2-й степеней, у больных сахарным диабетом 2-го типа в фазе компенсации и субкомпенсации, а также у больных сахарным диабетом с артериальной гипертензией при коррекции артериального давления лозартаном. Показано, что у пациентов с артериальной гипертензией 1-2-й степеней относительное содержание активированных тромбоцитов не отличается от нормального уровня. У больных сахарным диабетом 2-го типа в фазе компенсации или субкомпенсации наблюдается резкое повышение степени активации тромбоцитов независимо от наличия (+150,9%) или отсутствия артериальной гипертензии (+141,5%). Проведённая антигипертензивная терапия не влияет на спонтанную активацию тромбоцитов в течение 1 года. У пациентов с артериальной гипертензией агрегационный потенциал тромбоцитов является наиболее чувствительным звеном повреждения тромбоцитарного гемостаза, который возможно нормализовать, начиная с 6-го месяца применения лозартана. У больных сахарным диабетом 2-го типа с артериальной гипертензией повышение содержания агрегированных тромбоцитов является наиболее существенным (на 75,4%), а достоверный эффект антигипертензивной терапии по ограничению агрегации тромбоцитов достигается через 9 месяцев лечения. Степень дегрануляции тромбоцитов не отличается от нормы у пациентов с артериальной гипертензией и значительно повышен у больных сахарным диабетом 2-го типа (на 81,0%),

причём в течение 1 года наблюдения выявляется постоянный уровень параметра. В группе больных сахарным диабетом с артериальной гипертензией, в которой исходное содержание дегранулированных тромбоцитов является резко повышенным (на 76,2%), наблюдается существенная положительная динамика в течение терапии с использованием лозартана.

Abstract. Effect of losartan on the ultrastructural morphology of blood cells in patients with diabetes mellitus and hypertension. Pertseva N.O., Turlyun T.S. *Ultrastructural changes of blood cells in with patients with hypertension of 1-2-degree, in patients with diabetes mellitus type 2 at compensation and subcompensation phase as well as in patients with diabetes mellitus and hypertension during correction of blood pressure with losartan was defined. It is shown that in patients with hypertension of 1-2-degree relative content of activated platelets does not differ from the normal level. In patients with diabetes mellitus type 2 at compensation or subcompensation phase increase of degree of platelet activation, regardless of presence (150.9%) or absence of hypertension (141.5%) is observed. Conducted antihypertensive therapy does not affect the spontaneous activation of platelets within 1 year. In patients with hypertension potential aggregation of platelets is the most sensitive element of platelet hemostasis damage, which can be normalized beginning with 6-th month of losartan treatment. In patients with diabetes mellitus type 2 with hypertension elevation of platelet aggregation is the most significant (75.4%) and a reliable effect of antihypertensive therapy on limitation of platelet aggregation is achieved in 9 months of treatment. The degree of platelet degranulation is not different from the norm in patients with hypertension and significantly elevated in patients with diabetes mellitus type 2 (by 81.0%), during 1-year observation a constant level of the parameter is revealed. In the group of patients with diabetes mellitus and hypertension, where the original content of degranulated platelets is sharply increased (by 76.2%), a significant positive dynamics in the course of treatment with losartan is observed.*

Ушкодження тромбоцитарного гемостазу має велике значення в патогенезі гострих судинних катастроф (тромбозів, емболій), які є найбільш частою причиною смерті хворих на артеріальну гіпертонію (АГ). У численних дослідженнях показано, що АГ супроводжується змінами агрегації тромбоцитів з ознаками їх гіперфункції. Починаючи з ранніх етапів формування АГ, відзначається тенденція до активації тромбоцитів, що пов'язують зі змінами біомеханічних умов їх функціонування. При цьому відбувається активація ферментних систем тромбоцитів, зростає їх агрегація, змінюються функціональні властивості, що загалом суттєво підвищує ризик тромботичних ускладнень [5].

Показано, що тромбін є агресивним стимулятором тромбоцитів. Цей агент взаємодіє з тромбоцитами через специфічні рецептори, у результаті чого тромбоцит змінює форму, утворює псевдоподії, зростає площа його поверхні. Змінюються співвідношення різних фосфоліпідів у складі клітинної мембрани, що викликає появу на зовнішній поверхні тромбоцита кислих фосфоліпідів з прокоагулянтними властивостями. Відбувається екскреція вмісту гранул і активовані тромбоцити об'єднуються один з одним та іншими клітинами крові (адгезія й агрегація). У подальшому в процесі в'язкого метаморфозу тромбоцити виділяють томбокساني, що мають потужний вазоконстрикторний ефект, і таким чином реалізують один з механізмів артеріальної гіпертензії [2].

Дослідження тромбоцитів у хворих на АГ за допомогою електронної мікроскопії визначило присутність різних морфологічних форм, що

зумовлені їх підвищеною активацією. Найбільш характерними виявилися зміни за псевдоподіальним і гіаліновим типами [7]. Ступінь ушкодження судинної стінки суттєво залежить від балансу окиснювально-метаболічної функції нейтрофілів у крові й антиоксидантної активності плазми [10]. Спробою нового осмислення механізмів, що призводять до ушкодження функції ендотелію (від початкових метаболічних змін до утворення значних морфологічних перебудов всієї судинної стінки), є розгляд цих процесів з позиції окиснювального стресу. Аналіз кореляційних зв'язків між показниками окиснювального метаболізму нейтрофільних гранулоцитів, прооксидантної активності крові, прозапальних цитокінів і порушенням функціонального стану ендотелію виявив значну позитивну кореляцію, що підтверджує участь лейкоцитів у механізмах формування дисфункції ендотелію [6].

Вивчення тромбоцитарного гемостазу у хворих на АГ з ЦД 2-го типу показало, що розвиток патології виявляється дисфункцією ендотелію судин, яка прискорює формування атеросклерозу та його дестабілізацію [8]. Гіперкоагуляційна активність тромбоцитів, що розвивається при пошкодженні ендотелію у таких хворих, спонукає виділити цю категорію пацієнтів в особливу групу ризику за тромбогенними ускладненнями [9]. Дослідження показали, що між рівнем інсуліну і ступенем агрегаційної активності утворюються прямі кореляційні зв'язки, що вказує на формування у цих хворих гіперкоагуляційної активності крові й активацію судинно-тромбоцитарного гемостазу. Інсулінорезистентність і гіпертригліцеридемія як незалежні фактори сприяють

підвищенню спонтанної та індукованої агрегації тромбоцитів, збільшують ймовірність ушкодження ендотелію [1].

У роботах з оцінки ефективності антигіпертензивної терапії на лейкоцитарно-ендотеліальні взаємодії був виявлений виразний окиснювальний стрес за рахунок збільшення окисного метаболізму поліморфноядерних лейкоцитів і прооксидантної активності крові, ознаки ендотеліальної дисфункції (зниження вмісту оксиду азоту й фактора росту Віллебранда) у хворих на артеріальну гіпертензію порівняно з нормотензивними донорами. У дослідженнях показано здатність блокаторів рецепторів ангіотензину II та інгібіторів АПФ, на відміну від бета-адреноблокаторів, нормалізувати баланс про- й антиоксидантної активності, окиснювальний стрес і ендотеліальну функцію, включаючи активність прозапальних цитокінів і прокоагулянтних факторів, при АГ 1-2-го ступенів тяжкості [6]. Показано зокрема, що застосування лозартану у хворих на АГ при метаболічному синдромі впродовж 16 тижнів чинило позитивний вплив на синдром перекисації та оптимізувало агрегацію тромбоцитів [3].

Отже, антигіпертензивна терапія із залученням антагоністів рецепторів ангіотензину II у хворих на АГ, зокрема за умов метаболічних порушень, дозволяє досягнути оптимізуючого та нормалізуючого впливу на певні патогенетичні ланки розвитку хвороби, проте потребує подальшого аналізу особливостей внутрішньоклітинних патоморфологічних процесів і взаємодій між форменими елементами крові, що відбуваються при розвитку патології. Актуальною залишається кількісна і якісна оцінка морфологічних змін у складі ушкоджених ланок гемостазу за допомогою лікувальних заходів.

Мета дослідження – визначення ультраструктурних змін формених елементів крові у пацієнтів з АГ 1-2-го ступенів, у хворих на ЦД 2-го типу у фазі компенсації і субкомпенсації, а також у хворих на ЦД з АГ при корекції артеріального тиску лозартаном.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Ультраструктурне дослідження формених елементів крові проводили у 5 пацієнтів з АГ 1-2-го ступенів (перша клінічна група), 10 хворих на ЦД 2-го типу у фазі компенсації або субкомпенсації з супутньою АГ (друга група), 5 хворих на ЦД 2-го типу без АГ (третя група) і у 5 волонтерів – практично здорових осіб (контрольна група). Для корекції артеріального тиску застосовували антагоніст рецепторів ангіотензину II лозартан (Лозап®, Zentiva). Ультра-

структурний аналіз проводили на початку дослідження, а також через 3, 6, 9 і 12 місяців лікування.

Для ультраструктурного аналізу тромбоцитів 5 мл венозної крові центрифугували у гепаринізованій пробірці в режимі 900 об/хв. протягом 15 хвилин при температурі $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Фракцію збагаченої тромбоцитами плазми переносили у префіксаційний розчин (у співвідношенні 1:5), який містив 0,1%-ний розчин глютарового альдегіду ("SPI", США) у 0,1М фосфатному буфері (рН 7,4) при кімнатній температурі. Через 30 хвилин суспензію центрифугували при 3000 об/хв. протягом 10 хвилин.

Осад з тромбоцитами використовували для виготовлення суспензії для подальшого дослідження відповідно до рекомендацій Sawatzke C.L., Solomons C. (1980) [11]. Зразки протягом 2 годин фіксували при $+2^\circ\text{C}$ у 3%-ному розчині глютарового альдегіду, виготовленому на 0,2М фосфатному буфері (рН 7,4). Матеріал переносили для постфіксації в 1%-ий забуферений (рН 7,4) розчин тетроксиду осмію ("SPI", США) на 1 годину. Зневоднювали зразки за допомогою пропіленоксиду в розчинах зростаючої концентрації. Для виготовлення епоксидних блоків використовували композицію епон-аралдіт.

Зрізи контрастували за Рейнольдсом при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Дослідження проводили за допомогою трансмісійного електронного мікроскопа ПЕМ-100-01 ("SELMIP", Україна) при напрузі прискорення 65-90 кВ і первинних збільшеннях від 2000 до 20000. У цілому, електронномікроскопічне дослідження проводили за стандартною схемою [4].

Для кількісної оцінки ультраструктурних змін визначали відносний вміст агрегованих, дегранульованих і активованих тромбоцитів. Визначення вірогідності розходжень між вибірками проводили з урахуванням парного t-критерію Стьюдента. При проведенні статистичної обробки отриманих квантифікованих результатів усі необхідні розрахунки виконували за допомогою ліцензійної програми Statistica (версія 6.1; серійний номер AGAR 909 E415822FA).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Кількісне ультраструктурне дослідження внутрішньосудинної активації тромбоцитів показало відсутність суттєвих змін відносного вмісту активованих форм у хворих на АГ (перша група) порівняно з групою контролю. Навпаки, у хворих на ЦД 2-го типу з АГ (друга група) і без АГ (третя група) рівень активованих тромбоцитів більше ніж удвічі перевищував контрольне значення (табл. 1). У пацієнтів першої групи

впродовж 12 місяців спостережень коливання досліджуваного параметра були незначними і не відрізнялись від нормальних значень. У хворих другої групи через 3 міс. від початку застосування лозартану відзначалося помітне зниження відносного вмісту активованих тромбоцитів; через 6 місяців їх частка суттєво поступалася початковому значенню (на 31,5%), але перевищувала контрольний рівень на 71,9% ($p < 0,05$).

Протягом наступних термінів спостереження редукція активованих форм продовжувалася і через 1 рік лікування становила -40,9% ($p < 0,05$) порівняно з вихідним значенням. У пацієнтів третьої клінічної групи відзначалася аналогічна за спрямованістю динаміка змін параметра, причому ступінь позитивних змін після 6-го місяця спостережень був дещо виразнішим, ніж у групі хворих на ЦД 2-го типу з АГ.

Таблиця 1

Відносний вміст активованих тромбоцитів (%), $P \pm m$

Термін дослідження	Клінічні групи		
	перша	друга	третья
На початку дослідження	26,4±3,8	56,2±6,1*	54,1±4,6*
Через 3 міс.	24,2±3,3	45,7±5,2*	50,3±4,8*
Через 6 міс.	25,8±3,2	38,5±4,9* **	39,1±4,3* **
Через 9 міс.	24,1±2,9	32,1±5,2**	30,1±3,9**
Через 12 міс.	25,1±3,0	33,2±4,1**	26,9±3,5**

Примітки: 1. * – достовірна відмінність від групи контролю (22,4 ± 3,5%); 2. ** – достовірна відмінність від вихідного значення

Отже, результати ультраструктурного аналізу внутрішньосудинної активації тромбоцитів показали, що у пацієнтів з АГ 1-2-го ступенів відносний вміст активованих форм не відрізнявся суттєво від нормального рівня як до початку застосування лозартану, так і протягом 1 року лікування. У хворих на ЦД 2-го типу у фазі компенсації або субкомпенсації спостерігалася різке підвищення ступеня активації тромбоцитів незалежно від наявності або відсутності АГ. При цьому відсутність значної різниці між другою і третьою групами хворих у динаміці редукції параметра протягом 1 року вказувала на від-

сутність впливу проведеної антигіпертензивної терапії на вміст активованих тромбоцитів.

Відносний вміст агрегованих тромбоцитів у хворих на АГ до початку застосування лозартану перевищував нормальний рівень на 66,2% ($p < 0,05$). Через 3 місяці лікування рівень параметра майже не змінювався (табл. 2), але в подальшому відзначалася значна редукція вмісту агрегованих форм порівняно з вихідним рівнем: через 6 міс. – на 33,3% ($p < 0,05$), через 9 міс. – на 36,1% ($p < 0,05$), наприкінці дослідження – на 38,9% ($p < 0,05$). У цей період значення параметра не мали достовірних відмінностей від контрольного рівня.

Таблиця 2

Відносний вміст агрегованих тромбоцитів (%), $P \pm m$

Термін дослідження	Клінічні групи		
	перша	друга	третья
На початку дослідження	10,8±1,1*	11,4±1,3*	7,5±0,8
Через 3 міс.	10,1±0,7*	10,9±1,4*	8,1±1,2
Через 6 міс.	7,2±0,6**	9,3±1,2	7,6±1,0
Через 9 міс.	6,9±0,6**	8,0±0,9**	7,2±0,8
Через 12 міс.	6,6±0,8**	8,4±0,8**	7,8±0,9

Примітки: 1. * – достовірна відмінність від групи контролю (6,5 ± 1,2%); 2. ** – достовірна відмінність від вихідного значення

У хворих на ЦД 2-го типу з АГ початковий рівень агрегованих тромбоцитів перевищував контрольне значення ще більшою мірою, ніж у хворих першої групи – на 75,4% ($p < 0,05$). Через 3 і 6 місяців лікування відзначалося поступове зниження рівня агрегованих тромбоцитів; через 9 місяців спостереження їх відносний вміст на 29,8% ($p < 0,05$) поступався початковому рівню з подальшою стабілізацією через 1 рік застосування лозартану. У цей період параметр не відрізнявся статистично вагомо від контрольного показника. У хворих на ЦД без АГ визначався незначний відносний вміст агрегованих тромбоцитів, який на жодному з етапів дослідження не відрізнявся суттєво від значення контрольної групи.

Наведені дані електронномікроскопічного дослідження свідчать про те, що у хворих на ЦД 2-го типу порушення внутрішньосудинної агрегації тромбоцитів не набували суттєвого рівня на початку дослідження і не змінювались протягом 1 року спостереження. Навпаки, у пацієнтів з АГ саме агрегаційний потенціал тромбоцитів був найбільш чутливою ланкою ушкодження тромбоцитарного гемостазу, яку вдавалося значною мірою нормалізувати, починаючи з 6-го місяця застосування лозартану. У хворих на ЦД 2-го типу з АГ підвищення вмісту агрегованих тромбоцитів було найбільш суттєвим. На відміну від першої клінічної групи, у цих хворих достовірний ефект антигіпертензивної терапії щодо обмеження агрегації тромбоцитів досягався лише через 9 місяців лікування.

Дослідження клітинного складу агрегатів дозволило виявити його суттєву залежність від нозології досліджуваного контингенту хворих та ефективності проведеної терапії. Зокрема, у пацієнтів з АГ на початку дослідження переважали тромбоцитарно-лейкоцитарні агрегати, які містили значну кількість нейтрофільних і еозинофільних гранулоцитів. Ультраструктура змінених за формою нейтрофілів свідчила про їх значну активацію з утворенням псевдоподій і великою кількістю фагосом. Часто у цитоплазмі поліморфноядерних лейкоцитів спостерігалися комплекси фагосом зі специфічними нейтрофільними гранулами та лізосомами (рис. 1).

Значна кількість активованих нейтрофілів з ознаками мікрофагоцитарної активності у складі тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів, здатних до руйнування оксиду азоту, опосередковано свідчила про наявність значного ступеня ендотеліальної дисфункції у пацієнтів з АГ.

Також у складі тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів крові хворих на АГ спостерігалася

підвищена кількість еозинофілів з помірною кількістю псевдоподій, обмеженою деформованістю, овальними специфічними гранулами лише одного типу. У більшості еозинофілів такі гранули мали діаметр 0,8-1,1 мкм і містили чітко контурований кристалоїд, що дозволяло зрахувати ці клітини до зрілих. Значна частка гранул розташовувалась близько цитолемі еозинофілів, кристалоїд у них не виявлявся. Кількість і щільність гранул була значно меншою порівняно з клітинами крові контрольної групи. Також зустрічалися гранулоцити з майже повною відсутністю специфічної зернистості (так звані легкі клітини), а також еозинофіли з поліморфними гранулами значно менших розмірів, ніж у зрілих клітинах. Вміст активних зрілих дегранульованих еозинофілів у складі агрегатів поряд із присутністю поодиноких незрілих клітин вказував на наявність помірного, але активного внутрішньосудинного запального процесу. Електронна мікроскопія тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів не виявила присутності лімфоцитів, моноцитів і базофільних гранулоцитів у їх складі.

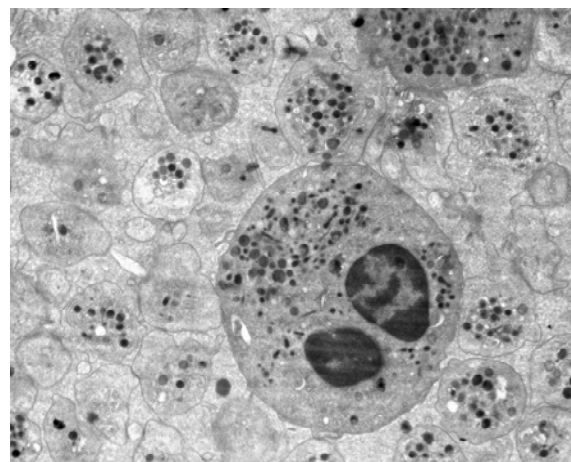


Рис. 1. Ультраструктура формених елементів крові хворої на АГ 2-го ступеня на початку дослідження. Електронограма. $\times 10000$.

Морфологія складних агрегатів у крові пацієнтів з АГ через 3 місяці від початку лікування із залученням лозартану не відрізнялася суттєво від початкового стану, але через 6 місяців спостережень вдавалося виявити низку певних змін, що виникли у цих хворих. Зокрема, кількість тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів помітно зменшувалась. У їх складі також зменшувався вміст нейтрофільних гранулоцитів, у той час як кількість еозинофілів не змінювалась порівняно з попередніми етапами дослідження. Нейтрофіли залишалися гетероморфними й характеризувалися

помірним утворенням псевдоподій, проте кількість фагосом та їх комплексів зі специфічними й неспецифічними гранулами зменшувалась (рис. 2).

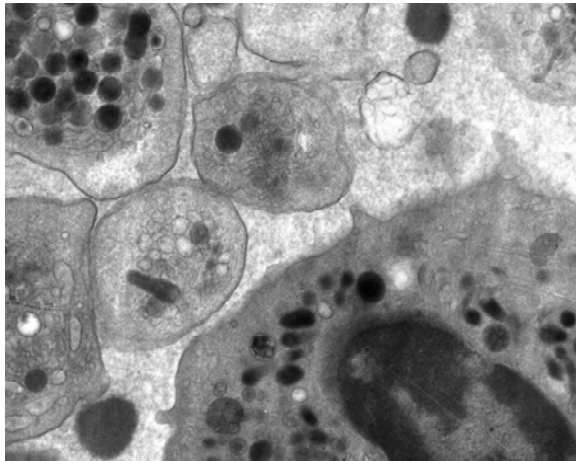


Рис. 2. Ультраструктура формених елементів крові хворої на АГ 2-го ступеня через 6 місяців спостереження. Електронограма. $\times 16000$.

Ультраструктура еозинофілів у складі циркулюючих агрегатів крові такого контингенту хворих свідчала про переважання зрілих форм з незначною активацією. Зокрема, деформовані або дегранульовані клітини, утворення ними псевдоподій виявлялися лише в поодиноких випадках. Склад та стан специфічних гранул підтверджували обмеження функціональної активності еозинофілів через 6 місяців терапії. Морфологія мітохондрій, пластинчастого комплексу і гранулярного ретикулуму також свідчили про відносну стабільність еозинофілів. Як і на попередніх етапах дослідження, лімфоцити, моноцити і базофіли не виявлялися у складі тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів.

Через 9 і 12 місяців від початку застосування лозартану у хворих на АГ спостерігалася майже повна відсутність залучення нейтрофільних гранулоцитів до складу циркулюючих агрегатів, а кількість еозинофілів була значно меншою порівняно з попередніми етапами дослідження. При цьому зазначені клітини не були деформованими й у більшості спостережень не утворювали псевдоподій. Наявні еозинофіли містили зрілі гранули з чітко контурованим кристалоїдом, стабільні за ультраструктурою мітохондрії і комплекс Гольджі, помірну кількість вільних і фіксованих рибосом. Дегранульовані (легкі) клітини або еозинофіли з гетероморфними гранулами (незрілі форми) не виявлялися. В окремих випадках спостерігалися гранулоцити в оточенні незначної кількості фібринових ниток, що, на

наш погляд, відображало певну фібринолітичну роль еозинофілів за умов значно обмеженого внутрішньосудинного запального процесу.

Визначення морфології циркулюючих агрегатів крові у хворих на ЦД 2-го типу з АГ на початку дослідження виявило наявність значної кількості функціонально активних поліморфно-ядерних лейкоцитів з розвинутими псевдоподіями, численними фагосомами та їх комплексами зі специфічними і неспецифічними гранулами (рис. 3). Поряд з цим, присутність незрілих форм нейтрофілів підтверджувала наявність як ендотеліальної дисфункції, так і активного внутрішньоклітинного запалення. Про розвиток запального процесу у пацієнтів другої клінічної групи свідчила також значна частка активованих еозинофільних гранулоцитів у складі тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів. Такі еозинофіли поряд зі зрілими гранулами й характерним кристалоїдом високої електронної щільності містили поліморфні зерна значно менших розмірів поблизу ядра. Зустрічались також частково дегранульовані клітини з рештками лабільних гранул під цитолемою. На відміну від пацієнтів з АГ, у хворих на ЦД 2-го типу з АГ у складі агрегатів зустрічались еритроцити, переважно з ознаками зворотної і незворотної активації. Часто спостерігалися еліпси, планоцити, стоматоцити, дискоцити з гребенем, ехіноцити, еритроцити у вигляді тузової ягоди.

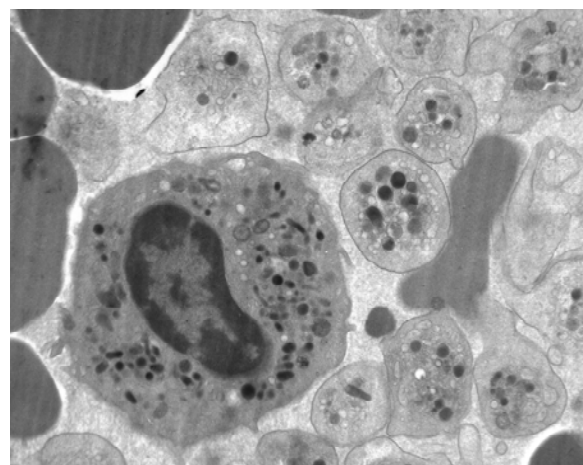


Рис. 3. Ультраструктура формених елементів крові хворого на ЦД 2-го типу у фазі компенсації з АГ 2-го ступеня на початку дослідження. Електронограма. $\times 12000$.

Через 3 і 6 місяців від початку лікування із залученням лозартану ультраструктурна картина тромбоцитарно-лейкоцитарно-еритроцитарних агрегатів не змінювалась суттєво порівняно з початковим етапом дослідження. Через 9 місяців

лікування циркулюючі агрегати крові містили незначну кількість поліморфноядерних гранулоцитів, які характеризувалися незначною деформованістю, помірним вмістом фагосом у комплексі з нейтрофільними гранулами або лізо-сомами (рис. 4). Зміни поверхневої мембрани нейтрофілів у вигляді псевдоподій зустрічалися в поодиноких випадках; незрілі форми клітин не виявлялися. Загалом, зміни ультраструктури нейтрофілів у складі агрегатів свідчили про помітне обмеження ендотеліальної дисфункції та інтенсивності внутрішньосудинного запалення у цей термін спостереження.

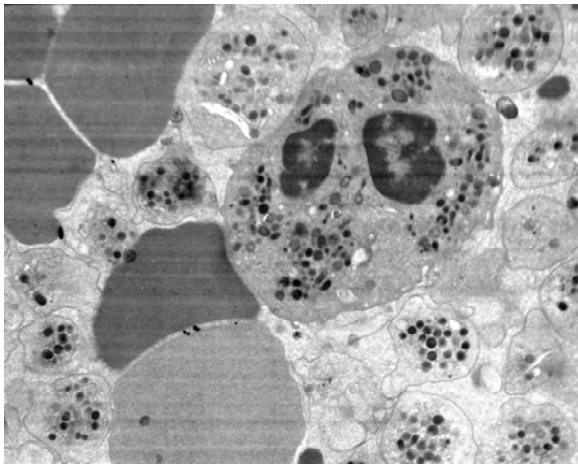


Рис. 4. Ультраструктура формених елементів крові хворої на ЦД 2-го типу у фазі субкомпенсації з АГ 2-го ступеня через 9 місяців спостереження. Електронограма. $\times 10000$.

Еозинофільні гранулоцити були представлені зрілими частково деформованими формами з незначною кількістю псевдоподій, численними типовими специфічними гранулами, помірно активними мітохондріями і пластинчастим апаратом. В окремих випадках спостерігалися еозинофіли в безпосередньому контакті з фібриноподібними нитками агрегатів. Кількість активованих еритроцитів порівняно з початковим етапом дослідження значно знижувалась.

На заключному етапі лікування у складі циркулюючих агрегатів нам не вдалося виявити поліморфноядерних гранулоцитів, кількість еритроцитів суттєво зменшувалась, у той час як домішок еозинофілів залишався досить вагомим. Ці клітини не мали ознак деформованості або значної дегрануляції, не утворювали псевдоподій. Переважна кількість специфічних гранул містила кристалоїд високої електронної щільності й розташовувалась поблизу ядра. Мітохондрії, комплекс Гольджі, гранулярний ретикулум не відрізнялися від попереднього етапу

дослідження. У складі агрегатів були відсутні легкі клітини або незрілі форми з гетероморфними гранулами. Також спостерігалися поодинокі еозинофіли поблизу невеликих фібриноподібних скупчень. Отже, зважаючи на збереження кристалоїду у складі еозинофільних гранул, який концентрує пероксидазу, можливо припустити, що поряд з відчутним контролем інтенсивності запалення і здійсненням позаклітинного фібринолізу на тлі проведеної антигіпертензивної терапії відбувалося суттєве обмеження оксидативного стресу у такого контингенту хворих.

Ультраструктурне дослідження у групі хворих на ЦД 2-го типу без АГ на початку дослідження виявило незначний вміст лейкоцитів у складних тромбоцитарних агрегатах, причому серед них переважали нейтрофільні гранулоцити. Їх морфологія свідчила про суттєво підвищену функціональну активність: цитоплазма клітин характеризувалась гетероморфністю, клітини мали численні псевдоподії, кількість фагосом та їх комплексів зі специфічними й неспецифічними гранулами була збільшеною, виявлялися незрілі нейтрофіли (рис. 5).

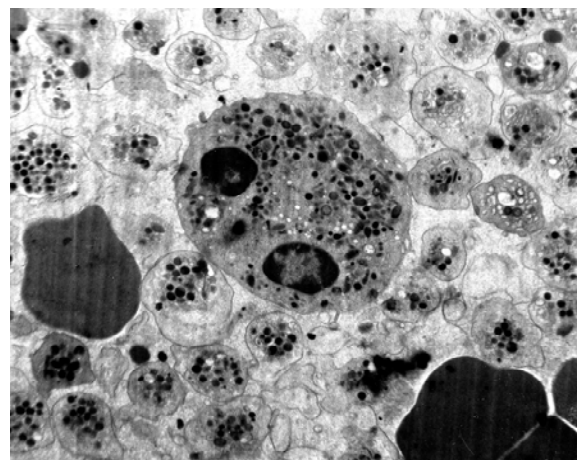


Рис. 5. Ультраструктура формених елементів крові хворої на ЦД 2-го типу у фазі субкомпенсації на початку дослідження. Електронограма. $\times 10000$.

Поодинокі еозинофільні гранулоцити виявляли ознаки гіперактивації за рахунок утворення розвинутих псевдоподій, значної деформованості, певної редукції органел загального призначення. Специфічні еозинофільні гранули розташовувались з незначною щільністю, часто на периферії клітин і свідчили про їх зрілість. Отже, поряд зі змінами нейтрофілів, характерними для ендотеліальної дисфункції, ознаки гіперактивації еозинофілів вказували на розвиток значного внутрішньосудинного запалення у

хворих на ЦД 2-го типу, а їх відносно невелика кількість у складі агрегатів – на обмеження участі еозинофілів як адаптивного регулятора запалення і як агента позаклітинного фібринолізу. Крім того, на відміну від морфології циркулюючих агрегатів у першій клінічній групі, складні агрегати у хворих на ЦД містили значну кількість еритроцитів, серед яких переважали незворотно трансформовані форми – куполоподібні та сфероцити, а також еритроцити у вигляді спущеного м'яча.

Протягом 1 року дослідження вміст еозинофілів у складі циркулюючих агрегатів крові не змінювався, морфологія клітин не відрізнялася від початкового стану, хоча нейтрофільні гранулоцити поступово зростали за кількістю і підвищували свою функціональну активність. Зокрема, через 3 і 6 місяців спостережень вони характеризувалися енергійним утворенням псевдоподій, деформованістю клітин і гетероморфністю гранул. Через 9 і 12 місяців дослідження у цитоплазмі поліморфноядерних клітин виявлялися численні комплекси фагосом різної електронної щільності зі специфічними гранулами, часто також асоційовані з лізосомами (рис. 6). Поряд із зазначеними змінами присутність незрілих форм нейтрофілів свідчила про наявність активного внутрішньосудинного запалення. Ступінь залучення еритроцитів до складу циркулюючих агрегатів крові на ЦД не змінювався

протягом року спостереження, проте частка незворотно трансформованих клітин помітно зростала.

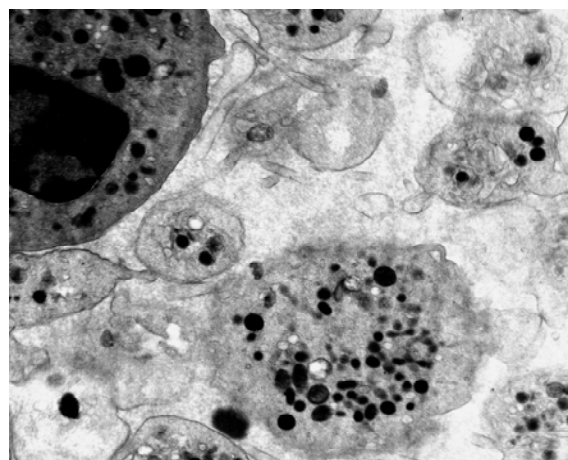


Рис. 6. Ультраструктура формених елементів крові хворої на ЦД 2-го типу у фазі субкомпенсації через 12 місяців спостереження. Електронограма. × 12000.

Визначення відносного вмісту дегранульованих тромбоцитів у крові хворих першої клінічної групи показало відсутність його суттєвих змін порівняно з групою контролю як на початку дослідження, так і впродовж 1 року лікування (табл. 3).

Таблиця 3

Відносний вміст дегранульованих тромбоцитів (%), $P \pm m$

Термін дослідження	Клінічні групи		
	перша	друга	третя
На початку дослідження	7,1±0,5	11,1±0,9*	11,4±1,5*
Через 3 міс.	6,5±0,8	10,2±1,1*	11,1±1,2*
Через 6 міс.	7,0±0,7	8,3±0,7* **	11,8±1,4*
Через 9 міс.	6,8±0,9	7,8±0,9**	10,7±1,3*
Через 12 міс.	7,3±1,0	7,6±0,6**	11,2±1,6*

Примітки: 1. * – достовірна відмінність від групи контролю (6,3 ± 0,8%); 2. ** – достовірна відмінність від вихідного значення

На відміну від групи пацієнтів з АГ, у хворих на ЦД 2-го типу з АГ на початку дослідження спостерігався різко підвищений рівень дегранульованих форм (на 76,2%; $p < 0,05$). Через 3 міс. лікування високий вміст тромбоцитів у стані дегрануляції зберігався, перевищуючи контрольний показник на 61,9% ($p < 0,05$), але на наступних етапах лікування відбувалося суттєве обме-

ження дегрануляції тромбоцитів. Зокрема, через 6 міс. від початку дослідження параметр зменшувався на 25,2% ($p < 0,05$) порівняно з початковим станом, проте все одно перевищував контрольне значення на 31,7% ($p < 0,05$). Через 9 і 12 місяців переважання вмісту дегранульованих форм над контролем втрачало статистичну вагомість, а редукція показника відносно значення

до лікування залишалась достовірною і становила 29,7% і 31,5% відповідно. У хворих на ЦД 2-го типу без АГ спостерігався значно підвищений вміст дегранульованих тромбоцитів (на 81,0%; $p < 0,05$) порівняно з контролем. На відміну від виразної позитивної динаміки, що встановлена у другій клінічній групі, у хворих на ЦД не відбувалося суттєвих змін рівня деградування тромбоцитів протягом 1 року спостережень. Зокрема, наприкінці дослідження частка дегранульованих тромбоцитів на 77,8% ($p < 0,05$) перевищувала контрольне значення.

Отже, за даними проведеного ультраморфометричного дослідження, ступінь деградування тромбоцитів не був підвищеним у пацієнтів з АГ, та значно зростав у хворих на ЦД 2-го типу, причому протягом 1 року спостереження був виявлений сталий рівень параметра в обох зазначених клінічних групах. У групі хворих на ЦД з АГ, в якій початковий вміст дегранульованих тромбоцитів був різко підвищеним, спостерігалася істотна позитивна динаміка протягом лікування із залученням лозартану, що, на наш погляд, свідчить про його суттєвий внесок у досягнення нормалізації вмісту дегранульованих форм.

ПІДСУМОК

У пацієнтів з АГ 1-2-го ступенів відносний вміст активованих тромбоцитів не відрізняється від нормального рівня. У хворих на ЦД 2-го типу

у фазі компенсації або субкомпенсації спостерігається різке підвищення ступеня активації тромбоцитів незалежно від наявності (+150,9%) або відсутності АГ (+141,5%). Проведена антигіпертензивна терапія не впливає на спонтанну активацію тромбоцитів протягом 1 року. У пацієнтів з АГ агрегаційний потенціал тромбоцитів є найбільш чутливою ланкою ушкодження тромбоцитарного гемостазу, яку можливо нормалізувати, починаючи з 6-го місяця застосування лозартану. У хворих на ЦД 2-го типу з АГ підвищення вмісту агрегованих тромбоцитів є найбільш суттєвим (на 75,4%), а достовірний ефект антигіпертензивної терапії щодо обмеження агрегації тромбоцитів досягається через 9 місяців лікування. Ступінь деградування тромбоцитів не відрізняється від норми у пацієнтів з АГ та значно підвищений у хворих на ЦД 2-го типу (на 81,0%), причому протягом 1 року спостереження виявляється сталий рівень параметра. У групі хворих на ЦД з АГ, в якій початковий вміст дегранульованих тромбоцитів є різко підвищеним (на 76,2%), спостерігається істотна позитивна динаміка протягом лікування із залученням лозартану.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з аналізом внутрішньоклітинних реакцій тромбоцитів, лейкоцитів і еритроцитів у хворих на ЦД і АГ при корекції артеріального тиску лозартаном.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Изменении активности тромбоцитарного гемостаза больных артериальной гипертонией с метаболическими нарушениями / Л.Н. Мингазетдинова, Э.Г. Муталова, Н.П. Каневская [и др.] // *Соврем. мед. технологии.* – 2004. – № 3. – С. 79-81.
2. Интенсивность образования активных молекул тромбина и контрактильные свойства сгустков у больных гипертензивной болезнью второй стадии / В.Б. Воробьев, Н.В. Карлина, А.Л. Зибарев, В.Е. Прутков // *Соврем. наукоемкие технологии.* – 2008. – № 12. – С. 57-58.
3. Медведев И.Н. Ослабление агрегационной способности тромбоцитов у больных артериальной гипертонией при метаболическом синдроме на фоне лозартана / И.Н. Медведев, Т.А. Кумова // *Рос. кардиол. журнал.* – 2008. – № 5. – С. 53-55.
4. Миронов А.А. Методы электронной микроскопии в биологии и медицине: метод. руководство / А.А. Миронов, Я.Ю. Комиссарчик, В.А. Миронов. – СПб.: Наука, 1994. – 400 с.
5. Носова Т.Ю. Современные взгляды на механизмы нарушения функций тромбоцитов при артериальной гипертонии с абдоминальным ожирением / Т.Ю. Носова, И.Н. Медведев // *Успехи соврем. естествознания.* – 2007. – № 12. – С. 371-373.
6. Роль нейтрофилов и прооксидантного потенциала крови в развитии эндотелиальной дисфункции при артериальной гипертензии / Е.А. Васькина, Д.Д. Цирендоржиев, Л.М. Демина [и др.] // *Бюллетень СО РАМН.* – 2003. – № 2. – С. 107-112.
7. Шилов А.М. Артериальная гипертензия и реологические свойства крови / А.М. Шилов, М.В. Мельник. – М.: БАРС, 2005. – 328 с.
8. Coagulation and fibrinolytic system impairment in insulin dependent diabetes mellitus / F. Carmassi, M. Morale, R. Puccetti [et al.] // *Thromb. Res.* – 1992. – Vol. 67. – P. 643-654.
9. Epstein M. Diabetes and hypertension: the bad companions / M. Epstein // *J. Hypertension.* – 1997. – Vol. 15, Suppl. 2. – P. 55-62.
10. Leukocyte-platelet aggregates as a marker of inflammation / L. Bouriachkovskaia, I. Uchitel, N. Dovlatova [et al.] // *Platelets.* – 2004. – Vol. 16, N 8. – P. 483-484.
11. 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, N 6. – P. 600-602.

REFERENCES

1. Mingazetdinova LN, Mutalova EG, Kanevskaya NP. Izmenenii aktivnosti trombositarnogo gemostaza bolnyih arterialnoy gipertoniey s metabolicheskimi narusheniyami. *Sovrem med tehnologii*. 2004;3:79-81.
2. Vorobev VB, Karlina NV, Zibarev AL, Prutkov VE. Intensivnost obrazovaniya aktivnyih molekul trombina i kontraktilnyie svoystva sgustkov u bolnyih gipertonicheskoy boleznuyu vtoroy stadii. *Sovrem naukoemkie tehnologii*. 2008;12:57-58.
3. Medvedev IN, Kumova TA. Oslablenie agregatsionnoy sposobnosti trombositov u bolnyih arterialnoy gipertoniey pri metabolicheskom sindrome na fone lozartana. *Ros kardiol zhurnal*. 2008;5:53-55.
4. Mironov AA, Komissarchik YaYu, Mironov VA. *Metodyi elektronnoy mikroskopii v biologii i meditsine: metod. rukovodstvo*. SPb: Nauka. 1994;400.
5. Nosova Tyu, Medvedev IN. *Sovremennyye vzglyady na mehanizmy narusheniya funktsiy trombo-*
- tsitov pri arterialnoy gipertonii s abdominalnyim ozhireniem. *Uspеhi sovrem estestvoznaniya*. 2007;12:371-3.
6. Vaskina EA, Tsirendorzhiiev DD, Demina LM. Rol neytrofilov i prooksidintnogo potentsiala krovi v razvitiі endotelialnoy disfunktsii pri arterialnoy gipertenzii. *Byulleten SO RAMN*. 2003;2:107-12.
7. Shilov AM, Melnik MV. *Arterialnaya gipertoniya i reologicheskie svoystva krovi*. M: BARS. 2005;328.
8. Carmassi F, Morale M, Puccetti R. Coagulation and fibrinolytic system impairment in insulin dependent diabetes mellitus. *Thromb Res*. 1992;67:643-54.
9. Epstein M. Diabetes and hypertension: the bad companions. *J Hypertension*. 1997;15(2):55-62.
10. Bouriachkovskaia L, Uchitel I, Dovlatova N. Leukocyte-platelet aggregates as a marker of inflammation. *Platelets*. 2004;16(8):483-4.
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.



УДК 616.125-8-009.3-037

О.С. Калашишникова

**СЕРЦЕВО-СУДИННИЙ РИЗИК У ПАЦІЄНТІВ
З НЕКЛАПАННОЮ ПЕРСИСТУЮЧОЮ
ФІБРИЛЯЦІЄЮ ПЕРЕДСЕРДЬ**

*ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра госпітальної терапії № 2
(зав. – академік НАМН України, д. мед. наук, професор Г.В. Дзяк)
Дніпропетровськ, 49044, Україна
SE "Dnipropetrovsk medical academy Ministry of Health of Ukraine"
hospital therapy department N 2
Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine
e-mail: oksankalashnikov@yandex.ru*

Ключові слова: *фібриляція передсердь, серцево-судинні фактори ризику, тромбоемболічні ускладнення*
Key words: *atrial fibrillation, cardiovascular risk factors, thromboembolism*

Реферат. Сердечно-сосудистый риск у пациентов с неклапанной персистирующей фибрилляцией предсердий. Калашишникова О.С. В статье представлены результаты изучения характеристик сердечно-сосудистого риска 133 пациентов с персистирующей неклапанной фибрилляцией предсердий (ФП) (основная группа), которые были госпитализированы для проведения плановой электрической кардиоверсии и результаты сравнения их сердечно-сосудистого риска с европейской популяцией пациентов с ФП Когорты I (6535 пациентов) международного регистра GARFIELD (группа сравнения). Среди пациентов нашего исследования старше 65 лет было 33,8% обследованных, в европейской популяции регистра GARFIELD таких пациентов было 73,8% ($p < 0,001$). В основной группе отмечается меньшее количество женщин (28,6% против 44,8%; $p < 0,001$). У участников нашего исследования чаще встречались такие факторы сердечно-сосудистого риска как ИМТ ≥ 30 ($31,9 \pm 5,7$ против $28,5 \pm 5,2$; $p < 0,001$), гиперхолестеринемия (72,9% против 46,1%; $p < 0,001$), ХБП со СКФ 30-59 мл/мин./1,73м³ (36,8% против 12,1%; $p < 0,001$), злоупотребление алкоголем (6,8% против