

А. С. Гудзь, М. Л. Максимців
ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
МОЗ України
– м. Львів, Україна

УДК 617.735-002-02:616.633.66:616.155.2-076

ДОСЛІДЖЕННЯ ТРОМБОЦИТІВ IN VITRO: ПОШУК ЛАБОРАТОРНИХ ПОКАЗНИКІВ ПРОГРЕСУВАННЯ НЕПРОЛІФЕРАТИВНОЇ ДІАБЕТИЧНОЇ РЕТИНОПАТІЇ

До теперішнього часу продовжується пошук причин порушення мікроциркуляції різних органів при цукровому діабеті (ЦД).

Мета дослідження. Виявлення особливостей реактивності тромбоцитів (Тц) in vitro при прогресуванні непроліферативної діабетичної ретинопатії (ДР).

Матеріали і методи. Дослідження носило проспективний характер і включало 31 хворого (31 око) із ЦД 2-типу, у яких за результатами клініко-інструментального обстеження та у відповідності із класифікацією ETDRS виявлена легка (19 хворих, 19 очей) і помірна (12 хворих, 12 очей) стадії непроліферативної ДР. Офтальмологічне обстеження проводилось до початку лікування і включало: збір анамнезу, візіометрію, пневмотонометрію, кераторефрактометрію, біомікроскопію переднього відрізка, біомікроретиноскопію, оптичну когерентну томографію сітківки, ретинальну фотографію. Тц виділяли шляхом центрифугування із цитратної периферичної крові пацієнтів. Для активації Тц використовували агоністи, що залучені у патогенез ЦД: АДФ, адреналін, ангіотензин-2, фактор активації тромбоцитів (ФАТ) і колаген. Оцінку АТц проводили спектрофотометричним методом на аналізаторі ChronoLog (США).

Результати та їх обговорення. При прогресуванні непроліферативної ДР відбувається зниження корегованої гостроти зору, зростання товщини сітківки і об'єму макулярної сітківки в центральній зоні, що обумовлено декомпенсацією ЦД 2 типу. Для пацієнтів із непроліферативною ДР є характерним протромбогенний фенотип Тц із домінуючою функціональною активністю α -2 адренорецепторів. Причому у пацієнтів із легкою стадією непроліферативної діабетичної ретинопатії виявлено два основних кластера рецепторів Тц, які співпадали за високою активністю α 2-адренорецепторів і АТ₁-рецепторів, але відрізнялися реакцією Тц на колаген ($p < 0,001$). У пацієнтів із помірною стадією непроліферативної ДР мають місце два інших кластера Тц, відмінністю яких є активність АТ₁-рецепторів і ФАТ-рецепторів ($p < 0,001$).

Висновки. Визнання відмінності кластерів активності Тц (кластеризація рецепторів) при легкій і помірній стадіях непроліферативної ДР має певне практичне значення в контексті пошуку інформативних лабораторних показників прогресування захворювання.

Ключові слова: цукровий діабет II тип, непроліферативна діабетична ретинопатія, реактивність тромбоцитів in vitro.

В останні роки проявився підвищений інтерес до дослідження тромбоцитів Тц in vitro, що обумовлено пошуком нових високоінформативних лабораторних показників для діагностики прогресування діабетичної ретинопатії (ДР) [1]. Особливої уваги заслуговують механізми прогресування ДР, оскільки їх розуміння обґрунтовує розробку діагностичних і лікувально-профілактичних заходів, які можуть запобігти розвитку сліпоти, що сприятиме збереженню здоров'я і підтриманню якості життя пацієнтів, особливо серед осіб молодого працездатного віку [7]. У літературі представлена обмежена інформація щодо участі Тц у прогресуванні ДР [4]. Проте, не викликає сумнівів, що: (а) Тц є ключовими учасниками атеротромбозу церебральних судин, а значить приймають участь у ремоделюванні стінки

судин, порушенні мікроциркуляції і проникливості гемато-офтальмічного бар'єра, що викликає дефіцит перфузії ока і гіпоксію фотосенсорних клітин [11]; (б) Тц можуть ініціювати запалення і модулювати функціональну активність нейронів і глії, ендотеліоцитів судин сітчатки ока, оскільки секретують різні біологічно активні речовини (фактор росту – PDGF, мікрочастинки з мРНК АДФ, серотонін, метаболіти арахідонової кислоти, та ін.) [10]. Наведені факти обґрунтовують необхідність з'ясування чи відрізняється реактивність тромбоцитів у пацієнтів із помірною і легкою стадіями непроліферативної діабетичної ретинопатії, а відтак реактивність Тц до якого з агоністів що залучені у патогенез ЦД, більшою мірою відображає прогресування непроліферативної ДР?

Мета дослідження – виявлення особливостей реактивності тромбоцитів *in vitro* при прогресуванні непроліферативної діабетичної ретинопатії.

Матеріали і методи. Дослідження носило проспективний характер і включало 31 хворого (31 око) із ЦД 2 типу, у яких за результатами клініко-інструментального обстеження та у відповідності із класифікацією ETDRS (1991) виявлена легка (19 хворих, 19 очей) і помірна (12 хворих, 12 очей) стадії непроліферативної ДР. Всі хворі, включені в дослідження, оглядалися ендокринологом та нефрологом. Офтальмологічне обстеження включало збір анамнезу, візометрію за допомогою комп'ютеризованого фороптера (Refractor RT-5100, Nidek, Japan) та проектора оптичних знаків (CP-770, Nidek, Japan), пневмотонометрію (NT-530, Nidek, Japan), кераторефрактометрію (ARK-1000 OPD-Scan II, Nidek, Japan), біомікроскопію переднього відрізка (щільна лампа Haag-Streit BQ 900, Swiss), біомікроретиноскопію за допомогою ширококутної лінзи Super Pupil XL (Volk Optical, USA), оптичну когерентну томографію (Optovue RTVue, Optovue, USA).

Тц виділяли шляхом центрифугування із цитратної периферичної крові пацієнтів і використовували для оцінки функціональної активності рецепторів. В дослідженні застосовували агоністи, що залучені у патогенез ЦД, зокрема: АДФ, який забезпечує аутокринну стимуляцію Тц, накопичується в щільних гранулах і підтримує проагрегантний статус Тц; адреналін – гуморальний фактор, рівень якого зростає за умов стрес-реакції внаслідок активації симпатго-адреналової системи; ангіотензин-2 – гуморальний фактор, рівень якого зростає внаслідок активації ренін-ангіотензинової системи; фактор активації тромбоцитів (ФАТ) – паракринний медіатор, що забезпечує стимуляцію Тц, а також взаємодію лейкоцитів і Тц у реалізації запалення; колаген – системний чинник, який відбиває вплив концентрації розчиненого колагену в крові та/чи експресії колагену базальної мембрани судин на тромбоцитарну ланку гемостазу.

Агоністи (Sigma, США) використовували в ефективній концентрації (EC_{50}), яка викликала вилучення у 10 хворих із ЦД-2 типу без змін на очному дні (контрольна група) агрегацію тромбоцитів (АТц) на рівні 50 ± 5 %. З цією ціллю *in vitro* дослідили ефекти різних концентрацій адреналіну, колагену, ангіотензину-2, АДФ і фактору активації тромбоцитів (ФАТ), що дозволило побудувати криву доза-відповідь, за якою було визначено ефективна концентрація (EC_{50}) кожного агоністу, яка забезпечувала агрегацію тромбоцитів (АТц) на рівні 50 ± 5 %. Для адреналіну така становила – $2,5 \pm 0,1$ мкМ, колагену – $1,0 \pm 0,03$ мг/мл, ангіотензину-II (Анг-2) – $1,0 \pm 0,06$ мкМ, фактору активації тромбоцитів (ФАТ) – $75,0 \pm 2,6$ мкМ і АДФ – $2,5 \pm 0,05$ мкМ. Оцінку агрегації Тц проводили спектрофотометричним методом на аналізаторі ChronoLog (США). У всіх обстежених отримано інформовану згоду пацієнта на участь в дослідженні. При проведенні аналізу використовували статистичний пакет Medcalc. Точкова оцінка величин, що підлягали аналізу, проводилася шляхом розрахунку середнього арифметичного ознаки (\bar{X}), або її медіани (Me) та відповідної стандартної похибки (m). При аналізі міжгрупових розбіжностей у випадку двох груп застосовували критерій Стьюдента (у випадку нормального закону розподілу та кількісних характеристик), критерій Вілкоксона (у випадку відмінності закону розподілу від нормального та кількісних характеристик), метод кутового перетворення Фішера (у випадку порівняння частоти якісних ознак). У всіх випадках відмінність вважалася статистично значущою при рівні значущості $p < 0,05$. Для виявлення зв'язку між ознаками застосовували методи кореляційного аналізу: розраховували коефіцієнт кореляції Пірсона R (у випадку нормального закону розподілу), або показник рангової кореляції Спірмена (у випадку відмінності закону розподілу від нормального).

Результати та їх обговорення. За результатами клініко-інструментального обстеження легка стадія непроліферативної діабетичної ретинопатії визначена у 19 пацієнтів (середній вік – $69,7 \pm 2,1$ рік). Найбільша кількість хворих – 11 (57,9 %) знаходились у віковому діапазоні 70–80 років. До цієї групи увійшли 8 (42,1 %) чоловіків, середній вік яких становив $69,4 \pm 1,9$ роки (95 % ДІ 64,8–73,9 роки) і 11 (57,9 %) жінок віком $69,9 \pm 3,4$ років (95 % ДІ 62,4–77,4 роки); гендерна різниця віку не є статистично значущою ($p = 0,442$). Глікемія у пацієнтів досягала $8,51 \pm 0,55$ ммоль/л, причому середня тривалість ЦД становила $7,6 \pm 1,1$ роки. Привертає увагу частота макулярного набряку, який виявлений у 7 (36,8 %) хворих, з яких – 2 (28,6 %) чоловіки і 5 жінок (71,4 %). В залежності від тривалості ЦД 2 типу, пацієнтів даної групи можна розподілити на три підгрупи. Підгрупу А склали 7 (36,8 %) хворих із тривалістю ЦД від 0 до 5 років, з яких 3 пацієнтів знаходились в стадії субкомпенсації ЦД і 2 – в стадії декомпенсації. В підгрупу Б увійшли 8 (42,1 %) пацієнтів, у яких тривалість ЦД знаходилась в діапазоні від 6 до 10 років, причому в стадії субкомпенсації захворювання виявлено 3 хворих і декомпенсації – 5 хворих. В підгрупу В віднесені 4 (21,1 %) пацієнти, у яких тривалість ЦД перевищувала 10 років. Всі пацієнти були в стадії декомпенсації ЦД.

Помірна стадія непроліферативної ДР була визначена у 12 пацієнтів (середній вік – $67,2 \pm 2,2$ роки). Найбільша кількість хворих – 11 (41,7 %) знаходились у віковому діапазоні 60–65 років. Група представлена 4 (33,3 %) чоловіками, середній вік яких становив $63,5 \pm 1,3$ роки (95 % ДІ 52,3–67,7 років) і 8 (66,7 %) жінками віком $69,0 \pm 3,1$ років (95 % ДІ 61,8–76,2 роки); гендерна різниця віку не є статистично значущою.

($p=0,214$). Причому вік чоловіків знаходився в діапазоні 60–68 років, тоді як найбільша кількість жінок – 4 (50 %) у діапазоні 70–75 років. Глікемія у пацієнтів досягала $8,4 \pm 0,67$ ммоль/л і статистично значуще не відрізнялася від такої у пацієнтів із легкою стадією непроліферативної ДР ($8,51 \pm 0,55$ ммоль/л), причому середня тривалість ЦД становила $7,2 \pm 1,8$ років. Макулярний набряк виявлений у 7 (58,3 %) хворих, з яких – 3 (42,9 %) чоловіки і 4 жінки (57,1 %). В залежності від тривалості ЦД 2 типу, пацієнтів даної групи можна розподілити на три підгрупи. Підгрупу А склали 7 (58,3 %) хворих із тривалістю ЦД від 0 до 5 років, з яких 3 пацієнти знаходилися в стадії субкомпенсації ЦД і 4 – в стадії декомпенсації. В підгрупу Б увійшли 2 (16,7 %) пацієнти, у яких тривалість ЦД знаходилася в діапазоні від 6 до 10 років, причому обидва в стадії декомпенсації. В підгрупу В віднесені 3 (25 %) пацієнти, у яких тривалість ЦД перевищувала 10 років. Всі пацієнти були в стадії декомпенсації ЦД.

Перше питання: чи відрізняється морфо-функціональний стан ока у досліджених пацієнтів при прогресуванні непроліферативної ДР?

Співставлення морфо-функціонального стану ока у хворих із легкою та помірною стадіями непроліферативної ДР без урахування стадій компенсації ЦД виявило статистично значущі розбіжності досліджених показників (табл. 1). Зокрема при прогресуванні непроліферативної ДР відбувається зниження корегованої гостроти зору (на 61,2 %; $p=0,004$), зростання товщини центральної зони сітківки (на 26,1 %; $p=0,019$) і об'єму макулярної сітківки (на 13,5 %; $p=0,009$).

Оскільки більшість пацієнтів із помірною (9 хворих, 75 %) і легкою (13 хворих, 68,4 %) стадіями непроліферативної ДР знаходилися в стадії деком-

пенсації ЦД, то необхідно було з'ясувати чи відрізняється морфо-функціональна характеристика ока при прогресуванні непроліферативної ДР за умов декомпенсованої стадії ЦД. Результати статистичного аналізу свідчать, що при декомпенсованій стадії ЦД у пацієнтів із помірною стадією непроліферативної ДР товщина центральної зони сітківки була на 16,8 % більше, ніж у хворих із легкою стадією (відповідно $314,0 \pm 39,2$ мкм і $249,0 \pm 15,5$ мкм; $p=0,270$). На 8,9 % ($p<0,001$) зростав об'єм макулярної сітківки в центральній зоні (до $7,37 \pm 0,47$ мм³). Таким чином, при прогресуванні непроліферативної ДР зростають морфо-функціональні зміни ока, що, зокрема, обумовлено декомпенсацією ЦД.

Далі необхідно було встановити – чи відрізняється реактивність тромбоцитів у пацієнтів із помірною і легкою стадіями непроліферативної діабетичної ретинопатії?

Проведене *in vitro* дослідження показало, що у пацієнтів із легкою стадією непроліферативної ДР визначалася гіперреактивність Тц (АТц > 55 %) стосовно трьох агоністів: адреналіну, колагену і Ан-2 (табл. 2), тобто визначався протромбогенний фенотип Тц. Причому реакція Тц на адреналін перевищувала таку стосовно колагену і Ан-2, відповідно на 20,0 % і 18,1 % ($p<0,01$). При помірній стадії непроліферативної ДР мала місце гіперреактивність Тц стосовно чотирьох агоністів: адреналіну, Ан-2, колагену і ФАТ, що відбиває наявність протромбогенного фенотипу Тц. Провідним фактором індукції агрегації Тц також був адреналін, стосовно якого ефект колагену був на 15,1 %, Ан-2 на 13,7 %, АДФ на 23 % і ФАТ на 10,6 % менше ($p<0,01$). Функціональна активність α -2 адренорецепторів Тц при прогресуванні непроліферативної ДР залишалася

Таблиця 1

Функціональний стан ока і морфологічна характеристика сітківки у пацієнтів при прогресуванні непроліферативної діабетичної ретинопатії

Показник	Медіана	I кuartиль	III кuartиль	Помилка медіани	Лівий (95% ДІ)	Правий (95% ДІ)
Помірна стадія непроліферативної діабетичної ретинопатії (n=12)						
Корегована ГЗ	0,35 $p=0,004$	0,175	0,7	0,12	0,15	0,8
Внутрішньо-очний тиск, мм. рт. ст.	16,5	13	18,5	1,1	13	19
Товщина сітківки в центральній зоні, мкм	314 $p=0,019$	284	383	39,2	283	414
Об'єм макулярної сітківки, мм ³	7,375 $p=0,009$	7,035	8,535	0,472	7,03	8,77
Легка стадія непроліферативної діабетичної ретинопатії (n=19)						
Корегована ГЗ	0,9	0,7	1	0,07	0,7	1
Внутрішньо-очний тиск, мм. рт. ст.	16	14	18	0,95	15	17
Товщина сітківки в центральній зоні, мкм	249	228	311	15,5	228	275
Об'єм макулярної сітківки, мм ³	6,5	6,1	7,2	0,216	6,1	7,2

Примітка: p – вірогідність розбіжностей показників стосовно групи пацієнтів із легкою стадією непроліферативної ДР

Таблиця 2

Міжгрупові розбіжності індукованої агрегації тромбоцитів при прогресуванні непроліферативної діабетичної ретинопатії

Індуктор агрегації	Легка стадія непроліферативної ДР		Помірна стадія непроліферативної ДР	
	Me±m (%)	ДІ	Me±m (%)	ДІ
Колаген (1,0 мг/мл)	60,0±2,3	54–67	59,0±1,90	56–66
Адреналін (2,5 мкМ)	72,0±2,0	69–74	69,5±1,5	68–75
Ан-2 (1,0 мкМ)	59,0±1,4	57–63	60,0±2,7	54–70
АДФ (2,5 мкМ)	51,0±1,2	49–52	53,5±0,91	51–55
ФАТ (75,0 мкМ)	52,0±1,1	51–55	62,1±2,5***	56–66

Примітка: *** – вірогідність розбіжностей стосовно групи пацієнтів із легкою стадією непроліферативної ДР – $p < 0,001$

високою і статистично значуще не відрізнялася у пацієнтів із легкою і помірною стадіями ДР.

Наступне питання: до якого з агоністів (адреналін, колаген, Ан-2, ФАТ чи АДФ) реактивність Тц більшою мірою відображає прогресування непроліферативної ДР?

Проведені дослідження показали, що у обстежених пацієнтів із легкою стадією непроліферативної ДР існують два основних кластера рецепторів Тц, що враховують функціональний стан досліджених рецепторів ($\alpha 2$ -адренорецепторів і пуринових рецепторів, GP-VI-рецепторів до колагену, АТ₁-рецепторів і ФАТ-рецепторів). У 8 (42,1 %) пацієнтів реакція Тц на адреналін перевищувала таку на колаген і Ан-2 відповідно на 7,5 % і 22,0 % ($p < 0,05$). Функціональна активність рецепторів знижувалася в ряду досліджених наступним чином: $\alpha 2$ -адренорецептор > GP-VI-рецептор > АТ₁-рецептор > ФАТ-рецептор – пуринові рецептори (різновид А кластеру активності рецепторів). У 11 (57,9 %) пацієнтів також мала місце гіперадренореактивність – реакція Тц на адреналін перевищувала таку на Ан-2, колаген, ФАТ і АДФ відповідно на 23,5 %, 31,5 %, 32,7 % і 37,9 % ($p < 0,001$). Кластер активності рецепторів змінювався і виглядав як: $\alpha 2$ -адренорецептор > АТ₁-рецептор > GP-VI-рецептор – ФАТ-рецептор – пуринові рецептори (різновид Б кластеру функціонального стану рецепторів). Таким чином, кластери співпадали за високою активністю $\alpha 2$ -адренорецепторів і АТ₁-рецепторів, але відрізнялися реакцією Тц на колаген. У різновиді кластеру А реактивність Тц стосовно колагену перевищувала таку в різновиді кластеру Б на 24,1 % ($p < 0,001$), тоді як реакція Тц на адреналін, Ан-2, ФАТ і АДФ статистично значуще не відрізнялася ($p > 0,05$). Причому активність пуринових (P2Y₁ і P2Y₁₂) і ФАТ-рецепторів відповідала діапазону нормореактивності.

Дослідження індивідуальної Ан-2 індукованої

агрегації Тц у 12 обстежених пацієнтів із помірною стадією непроліферативної ДР показали, що мають місце два основних кластера Тц, що віддзеркалюють різний функціональний стан АТ₁-рецепторів, тобто їх нормо- і гіперреактивність. У 5 (41,7 %) пацієнтів функціональна активність рецепторів представлена наступним чином: $\alpha 2$ -адренорецептор = АТ₁-рецептор > ФАТ-рецептор = GP-VI-рецептор = пуринові рецептори (кластер С). Аналіз реактивності Тц до адреналіну і Ан-2 в I і III квартилях підтверджує, що у всіх обстежених пацієнтів мала місце гіперреактивність. У 7 (58,3 %) пацієнтів кластер активності рецепторів декілька змінювався: $\alpha 2$ -адренорецептор > ФАТ-рецептор > GP-VI-рецептор > АТ₁-рецептор > пуринові рецептори (кластер D). У всіх обстежених пацієнтів мала місце гіперадренореактивність та агрегація в I і III квартилях відповідно 68 % і 79 %. Основною відмінністю наведених кластерів є активність АТ₁-рецепторів і ФАТ-рецепторів. В кластері С реактивність Тц стосовно Ан-2 перевищувала таку в кластері D на 29,6 % ($p < 0,001$), тоді як в кластері D реакція Тц на ФАТ була більше ніж в кластері С на 14,3 % ($p < 0,001$).

Для пацієнтів із непроліферативною ДР є характерним протромбогенний фенотип Тц із домінуючою функціональною активністю $\alpha 2$ адренорецепторів. Загальні риси реакції Тц на адреналін, Ан-2 і колаген відбивають роль активації САС, РАС і експозиції колагену базальної мембрани судин в індукції тромбогенезу. До особливостей реактивності Тц, хворих з помірною стадією непроліферативної ДР, можна віднести зростаючий вплив ФАТ (паракринного медіатора, який забезпечує стимуляцію Тц лейкоцитами при реалізації запалення); тим самим проявляється роль запалення в індукції тромбогенезу [5]. До теперішнього часу немає ясності щодо характеристики фенотипів Тц при аналізі тромбогенезу і запалення за умов різних захворювань. Особливої уваги заслуговують

гіперреактивні (протромботичні) фенотипи Тц. Відомо, що пацієнти з ЦД відносяться до групи високого ризику серцево-судинних захворювань, і це пов'язують із зростанням реактивності Тц. Оскільки різні гуморальні фактори можуть брати участь у підвищенні агрегації Тц, то [6] пропонує розглядати у пацієнтів з ЦД гіперреактивний фенотип Тц. Особливістю цього фенотипу є неадекватна відповідь на призначення стандартних антиагрегантних лікарських засобів і, як наслідок, висока частота несприятливих рецидивуючих серцево-судинних подій. З одного боку, очевидно, що фенотип Тц є відображенням процесу індивідуальної реактивності, формується в процесі мегакаріоципозу і проявляється зокрема експресією на плазмалемі рецепторів. У цьому контексті поліморфізм генів мегакаріоцитів або наявність мікроРНК в Тц можуть супроводжуватися зміною фенотипу Тц. Так, гіперреактивний фенотип Тц і підвищений ризик тромбозу у хворих із ЦД 2 типу були визначені у носіїв алелю С rs956115 в гені інсулінового рецептору [2], тоді як гіпореактивний фенотип може бути пов'язаний із мутацією алеля тромбоцитарного гену NBEAL2 і проявляється дефіцитом α -гранул [3]. З іншого боку, індивідуальна реактивність організму передбачає динамічну зміну структурних елементів плазмалемі (насамперед рецепторних молекул і асоційованих з ними внутрішньоклітинних сигнальних шляхів) з метою реалізації адаптаційних/компенсаторних механізмів при дії факторів зовнішнього (етіопатогенні чинники захворювання) чи внутрішнього середовища. Отже, реактивність організму проявляється кластерами функціональної активності рецепторів Тц. Все частіше Тц згадуються як посередники, так і гравці, що ініціюють і підтримують альтерацію судин. В огляді [8] критично розглядаються ключові патофізіологічні аспекти цієї проблеми, зокрема визначається, що: (а), гіперглікемія, глікемічна варіабельність і резистентність до інсуліну можуть бути детермінантами і предикторами активності Тц; (б) медіатори запалення, які секретуються Тц, такі як ліганди CD40 і CD36, Dickkopf-1 і розчинний рецептор для глікованих кінцевих продуктів (sRAGE), розширюють функціональний репертуар тромбоцитів від реалізації гемостазу і тромбозу до потужних підсилювачів запалення, оскільки сприяють вивільненню цитокінів і хемокінів, активації клітин і міжклітинним взаємодіям; (в) стратифікацію пацієнтів стосовно антитромботичної дії аспірину обумовлена метаболічними фенотипами Тц. Взяті разом, ці патофізіологічні аспекти можуть внести свій вклад в розробку перспективних терапевтичних стратегій направлених на гальмування запальної реакції у пацієнтів з діабетом. Якщо участь Тц в пошкодженні судин і розвитку запалення при ЦД не викликає сумнівів, то їх роль в нейродегенеративних захворюваннях невідома. Така ситуація об-

межує можливості аналізу участі Тц у патогенезі ДР. Викликає інтерес повідомлення [9], що системне введення суспензії ліпідних рафтів мозку мишей викликало масову активацію Тц. В основі даного механізму лежить впізнавання Тц мозкових гангліозидів GT1b і GQ1b, що забезпечує підвищення активності Р-селектину (CD62P), який відіграє центральну роль у агрегації. Якщо це так, то під час нейрозапалення може виникати активований фенотип Тц, який секретує прозапальні чинники, що запускають каскади імунної відповіді. Це дослідження визначає можливість активації Тц за умов ушкодження нейронів, тобто появу зміненого фенотипу Тц.

Висновки

Визнання відмінності кластерів активності Тц (кластеризація рецепторів) при легкій і помірній стадіях непроліферативної ДР, має певне практичне значення, якщо повернутися до задачі пошуку інформативних лабораторних показників прогресування захворювання.

Теоретичне значення трансформації кластерів рецепторів дозволяє наблизитися до розуміння – які етіопатогенетичні фактори забезпечують перехід від легкої до помірної стадії непроліферативної ДР.

Література

1. Akdoğan M. The association of hematologic inflammatory markers with atherogenic index in type 2 diabetic retinopathy patients / M. Akdoğan, Y. Ustundag-Budak, K. Huysal // Clin Ophthalmol. – 2016. – Vol. 10. – P. 1797–1801.
2. Angiolillo D. J. Impact of insulin receptor substrate-1 genotypes on platelet reactivity and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease / D. J. Angiolillo, E. Bernardo, M. Zanoni [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2011. – Vol. 58 (1). – P. 30–39.
3. Bottega R. Correlation between platelet phenotype and NBEAL2 genotype in patients with congenital thrombocytopenia and α -granule deficiency / R. Bottega, A. Pecci, E. De. Candia [et al.] // Haematologica. – 2013. – Vol. 98 (6). – P. 868–874.
4. Cepeda-Nieto A. C. High prevalence of diabetic retinopathy and lack of association with integrin α 2 gene polymorphisms in patients with type 2 diabetes from Northeastern Mexico / A. C. Cepeda-Nieto, M. T. Esquivel-Contreras, F. Duran-Iñiguez [et al.] // Exp Ther Med. – 2015. – Vol. 10 (2). – P. 435–444.
5. Kapłon-Cieślicka A. Predictors of high platelet reactivity during aspirin treatment in patients with type 2 diabetes / A. Kapłon-Cieślicka, M. Rosiak, M. Postuła [et al.] // Kardiologia Pol. – 2013. – Vol. 71 (9). – P. 893–902.
6. Rollini F. Platelet function profiles in patients with diabetes mellitus / F. Rollini, A. Muñoz-Lozano, D. J.

- Angiolillo [et al.] // *J Cardiovasc Transl Res.* – 2013. – Vol. 6 (3). – P. 329–345.
7. Samara W. A. Quantification of Diabetic Macular Ischemia Using Optical Coherence Tomography Angiography and Its Relationship with Visual Acuity / W. A. Samara, A. Shahlaee, M. K. Adam [et al.] // *Ophthalmology.* – 2016. – Vol. 166. – P. 76–83. – DOI: 10.1016/j.ophtha.2016.10.008.
 8. Santilli F. Platelets and diabetes mellitus / F. Santilli, P. Simeone, R. Liani [et al.] // *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* – 2015 – Vol. 120. – P. 28–39.
 9. Sotnikov I. Platelets recognize brain-specific glycolipid structures, respond to neurovascular damage and promote neuroinflammation / I. Sotnikov, T. Veremeyko, S. C. Starossom [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8 (3). – e58979. – DOI: 10.1371/journal.pone.0058979.
 10. Tokarz A. Extracellular vesicles participate in the transport of cytokines and angiogenic factors in diabetic patients with ocular complications / A. Tokarz, I. Szuścik, B. Kuśnierz-Cabala [et al.] // *Folia Med Cracov.* – 2015. – Vol. 55 (4). – P. 35–48.
 11. Walsh T. G. The functional role of platelets in the regulation of angiogenesis / T. G. Walsh, P. Metharom, M. C. Berndt // *Platelets.* – 2015. – Vol. 26 (3). – P. 199–211.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРОМБОЦИТОВ IN VITRO: ПОИСК ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ НЕПРОЛИФЕРАТИВНОЙ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ

А. С. Гудзь, М. Л. Максимцив

Актуальность. До настоящего времени продолжается поиск причин нарушения микроциркуляции различных органов при сахарном диабете (СД).

Цель исследования. Выявление особенностей реактивности тромбоцитов (Тц) *in vitro* при прогрессировании непролиферативной диабетической ретинопатии (ДР).

Материал и методы. Исследование носило проспективный характер и включало 31 больного (31 глаз) с СД 2-типа, у которых по результатам клинико-инструментального обследования и в соответствии с классификацией ETDRS выявлена легкая (19 больных, 19 глаз) и умеренная (12 больных, 12 глаз) стадии непролиферативной ДР. Офтальмологическое обследование проводилось до начала лечения и включало: сбор анамнеза, визиометрию, пневмотонометрию, кераторефрактометрию, биомикроскопию переднего отрезка, биомикроретиноскопию с помощью широкоугольной линзы, оптическую когерентную томографию сетчатки, фотографирование сетчатки. Тромбоциты выделяли путем центрифугирования из цитратной периферической крови пациентов. Для активации Тц использовали агонисты, вовлеченные в патогенез СД 2-типа: АДФ, адреналин, ангиотензин-2, фактор активации тромбоцитов (ФАТ) и коллаген. Оценку агрегации проводили спектрофотометрическим методом на анализаторе ChronoLog (США).

Результаты. При прогрессировании непролиферативной ДР происходило снижение скорректированных остроты зрения, увеличение толщины и объема макулярной сетчатки в центральной зоне, что связано с декомпенсацией СД 2-типа. У пациентов с непролиферативной ДР выявлен протромбогенный фенотип Тц с доминирующей функциональной активностью α_2 -адренорецепторов. Причем у пациентов с легкой стадией непролиферативной ДР обнаружено два основных кластера рецепторов Тц, которые совпадали вследствие высокой активности α_2 -адренорецепторов и AT_1 -рецепторов, но отличались реакцией Тц на коллаген ($p < 0,001$). У пациентов с умеренной стадией непролиферативной ДР выявлялись два других кластера Тц, отличающихся активностью AT_1 -рецепторов и ФАТ-рецепторов ($p < 0,001$).

Заключение. Определение различия кластеров активности Тц (кластеризация рецепторов) при легкой и умеренной стадиях непролиферативной ДР имеет определенное практическое значение в контексте поиска информативных лабораторных показателей прогрессирования заболевания.

Ключевые слова: сахарный диабет II типа, непролиферативная диабетическая ретинопатия, реактивность тромбоцитов *in vitro*.

PLATELETS IN VITRO STUDY: NON-PROLIFERATIVE DIABETIC RETINOPATHY LABORATORY PROGRESSION PARAMETERS SEARCH

A. S. Gudz, M. L. Maksymtsiv

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Department of Ophthalmology of FPGE
Lviv, Ukraine

The causes of various microcirculatory disorders in diabetes mellitus (DM) are still under investigation.

Objective: to explore the features of platelet reactivity (Pl) *in vitro* with the progression of non-proliferative diabetic retinopathy (DR).

Material and methods. The study was prospective in nature and included 31 patients (31 eyes) with type 2 diabetes, in which, according to the results of clinical, instrumental examination and ETDRS classification (19 patients, 19 eyes) with mild and (12 patients, 12 eyes) with moderate non-proliferative DR was detected. Ophthalmological examination was performed before treatment and included: anamnesis collection, visometry, *pneumo*-tonometry, auto kerato-refractometry, anterior segment slit-lamp exam, retinoscopy, using wide-angle lenses, optical coherence tomography, retinal photography. Platelets were isolated by centrifugation of peripheral blood citrate. To activate platelets agonists involved in the pathogenesis of diabetes the following was used: adenosine diphosphate, epinephrine, angiotensin-2, platelet activating factor and collagen. Platelet aggregation was analyzed on the ChronoLog (USA) spectrophotometer.

Results. Visual acuity decreases, retinal thickness and macular retinal volume in the central zone increases due to decompensation of type 2 diabetes and non-proliferative DR progression. Prothrombogenic phenotype of platelets with dominant functional activity of α_2 adrenergic receptors is a characteristic for patients with non-proliferative DR. Moreover, in patients with mild non-proliferative DR two major PI receptors' clusters, which coincide for high α_2 -adrenergic and angiotensin receptor antagonists receptors activity, but differ in response to collagen ($p < 0.001$) are revealed. There are two other platelet clusters, which differ in activity of angiotensin receptor antagonists and PAF receptor ($p < 0.001$) in patients with moderate non-proliferative DR.

Conclusion. Recognition of differences of activity platelet clusters (receptor clustering) in the mild and moderate stages of non-proliferative DR has some practical value in the context of finding informative laboratory parameters of disease progression.

Key words: *diabetes mellitus type II, non-proliferative diabetic retinopathy, platelet reactivity in vitro.*

Стаття надійшла до редакції 14.03.2017 р.

Є. Х. Заремба¹, Н. О. Рак², О. М. Шевчун-Пудлик¹, Т. П. Донарська³, Н. В. Гриб⁴

¹ ФПДО Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького
МОЗ України

– м. Львів, Україна,

² Дублянська міська лікарня
– смт. Дубляни, Україна,

³ Комунальна міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги
– м. Львів, Україна,

⁴ Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика
МОЗ України
– м. Київ, Україна

УДК 616.12–008.331.1–06:616–018.2–007.17]–02:617.7

УРАЖЕННЯ ОРГАНА ЗОРУ У ХВОРИХ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ ПРИ НЕДИФЕРЕНЦІЙОВАНІЙ ДИСПЛАЗІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ

У статті опрацьовано прогностичні критерії тяжкості артеріальної гіпертензії (АГ) на основі вивчення проявів недиференційованої дисплазії сполучної тканини (НДСТ).

Мета дослідження – вивчення зміни органу зору у хворих на артеріальну гіпертензію при недиференційованій дисплазії сполучної тканини.

Матеріали та методи. Обстежено 75 хворих на АГ II–III стадії 1–3 ступенів високого та дуже високого ризику (50 жінок, 25 чоловіків), середній вік яких становив $63,5 \pm 4,2$ роки. Проведено дослідження клініко-морфологічних змін, показників лабораторних обстежень (ліпідний спектр крові, С-реактивний білок, серомукоїди, сечова кислота), та офтальмологічні методи дослідження (візометрію, офтальмоскопію, тонометрію, біомікроскопію, офтальмометрію, дослідження кольорового зору та визначення кута косоокості).

Результати та обговорення. При порівняльному аналізі у 11,3 % хворих були відсутні прояви недиференційованої дисплазії сполучної тканини, у 88,7 % спостерігали ряд симптомів та ознак НДСТ. Виявлено широке розповсюдження недиференційованої дисплазії сполучної тканини, в основі якої лежить її патологія.

Серед змін органу зору найчастіше зустрічали ангіопатію сітківки у 96,8 %, обмеження пе-