

В.О. Сергієнко

ЗМІНИ СИСТЕМИ ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2-го ТИПУ З КАРДІОМІОПАТІЄЮ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) є однією з визначальних проблем сучасної ендокринології. Це зумовлюється, з одного боку, значним зростанням захворюваності останніми десятиріччями, з іншого — тим, що специфічна цукрознижувальна терапія сприяє збільшенню тривалості життя хворих, у зв'язку з чим діабетичні ангіо- та нейропатії почастишали [8, 12].

Ураження серця у хворих на ЦД може спричинюватися діабетичною мікроангіопатією, кардіоміопатією, вегетативною діабетичною нейропатією (ДАНС), а також коронарним атеросклерозом. У переважної більшості хворих на ЦД 2-го типу з відсутністю діагностованих проявів атеросклерозу може виникати специфічне метаболічне захворювання серцевого м'яза — діабетична кардіоміопатія (ДКМП), характерною особливістю якої є відсутність тяжкої серцевої недостатності та кардіомегалії. У хворих переважають дистрофічні зміни в міокарді (МК), приєднуються мікросудинні ураження з розвитком клінічних проявів некоронарогенної (неатеросклеротичної) ішемічної хвороби серця (ІХС), виникненням некрозів. Діабетична кардіоміопатія є специфічним метаболічним захворюванням МК, що належить до вторинних метаболічних ендокринних кардіопатій. Діабетична кардіоміопатія зумовлюється метаболічними порушеннями в МК, розвитком діабетичної нейропатії та автономної нейропатії серця [24, 25].

Метою роботи було дослідження особливостей ультраструктурних і ультрагістохімічних змін альвеолярного відростка, деяких показників ліпідного обміну, перекисного окислення ліпідів, активності мембранозв'язаних ферментів еритроцитів у хворих на ЦД 2-го типу та діабетичну кардіоміопатію.

МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ

Обстежено 29 хворих на ЦД 2-го типу з кардіоміопатією. Вік хворих складав $46,1 \pm 5,4$ року. З метою контролю обстежено 15 практично здорових людей. Вік хворих на ЦД та осіб контрольної групи практично не відрізнявся ($p > 0,05$).

Верифікацію діагнозу діабетичної кардіоміопатії проводили на підставі наявності змін, виявлених шляхом ЕКГ (12-канальний електрокардіограф ЮКАРД-200) виробництва фірми UTAS (Україна) у 12 загаль-

ноприйнятих відведеннях, ехокардіографії в "М" та "U" відведеннях за стандартною методикою, рекомєндованою Асоціацією фахівців з ехокардіографії, добового моніторингу ЕКГ (холтерівська система ЕКГ "ЕС-3Н" виробництва фірми "Labtech", Угорщина), добового моніторингу артеріального тиску (добовий монітор АТ "ABPM-04" виробництва фірми "Meditech", Угорщина) [9, 13, 22].

Для виконання біохімічних обстежень забирали венозну кров хворих натще. Гемолізати еритроцитів отримували за методикою [26], "тіні" мембран еритроцитів — за [35], активність Na^+, K^+ -АТпази визначали за [32], глікозаміноглікани — за допомогою реакції з рутенієм червоним [38].

Інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) вивчали за рівнем малонового діальдегіду (МДА). У плазмі крові визначали концентрацію загального холестерину (ЗХ), β -ліпопротеїнів (β -ЛП), триацилгліцеринів (ТГ), α -ліпопротеїнів (α -ЛП).

Матеріал для ультраструктурного та ультрагістохімічного дослідження отримували шляхом проведення біопсії слизової альвеолярного відростка, скелетних м'язів нижніх кінцівок. Ультрагістохімічно досліджували локалізацію триацилгліцеринів [30], локалізацію $\text{Mg}^{2+}, \text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТпази у кровоносних капілярах [5].

Фіксацію матеріалу для ультраструктурного та ультрагістохімічного дослідження проводили 1,33% розчином чотирьохоксику осмію на какоділатному буфері ($\text{pH}=7,36$). Зрізи завтовшки 400-500 А° готували на ультрамікромомі LKB-III (Швеція), контрастували ураніацетатом і цитратом свинцю [39], фотореєстрацію здійснювали за допомогою електронного мікроскопа УЕМБ-100 К.

Дослідження проведено згідно з принципами Гельсінської декларації [42].

Статистичний аналіз проводили варіаційно-статистичним методом із використанням параметричного критерію Стюдента і непараметричного — Вілсохон [4, 15]. Для порівняльного аналізу відносних величин використовували t-критерій Фішера згідно з пакетом ANOVA (MicroCal Origin v. 8,0).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що за діабетичної кардіоміопатії у хворих на цукровий діабет 2-го типу

відбуваються реологічні порушення — внутрішньосудинна гіперагрегація еритроцитів у вигляді "монетних" стовпчиків із діapedезом еритроцитів у перикапілярний простір. Декомпенсований перебіг цукрового діабету, приєднання ДКМП супроводжується більш значущими, причому незворотними гемореологічними змінами еритроцитів, які найчастіше проявляються у вигляді "сладж-синдрому" — злипання еритроцитів у конгломерат з обтурацією мікросудин і гемолізом еритроцитів (рис. 1).

Крім того, виявлено, що діабетична кардіоміопатія характеризується різноманітними ультраструктурними змінами еритроцитів. Зокрема, встановлено, що просвіт багатьох кровоносних капілярів обтуровано "сладжами" еритроцитів (рис. 2), а частина еритроцитів перетворюється на клітини-"тіні", цілком позбавлені гемоглобіну. Агрегати "сладжованих" еритроцитів частково та/або цілком перекривають просвіт кровоносних капілярів, виключаючи їх з мікроциркуляції. Посилене руйнування еритроцитів у периферичній крові хворих на ЦД,

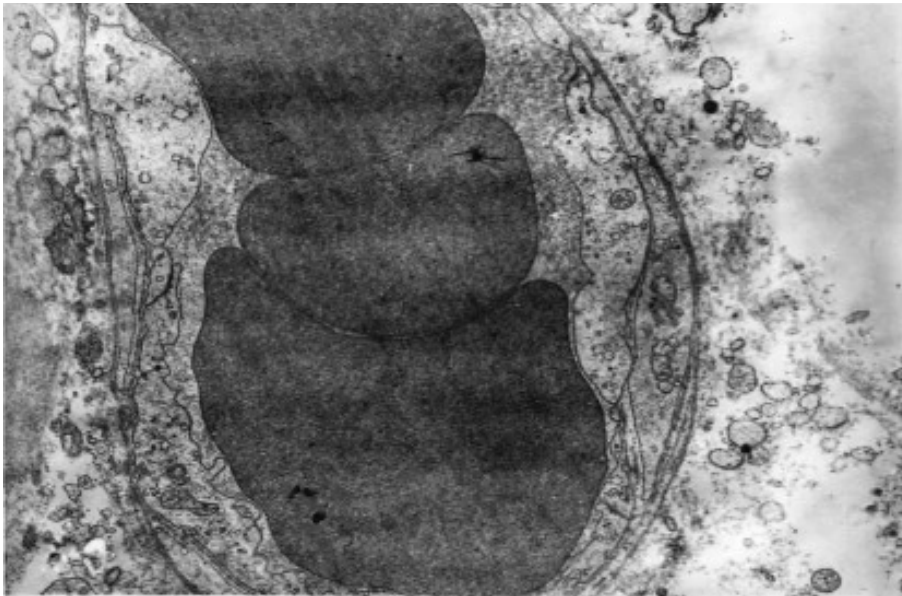


Рис. 1. "Сладж" еритроцитів у просвіті кровоносного капіляра. Накопичення продукту реакції на триацилгліцерини в мембрані еритроцита та у базальній мембрані. 36. 12 000.

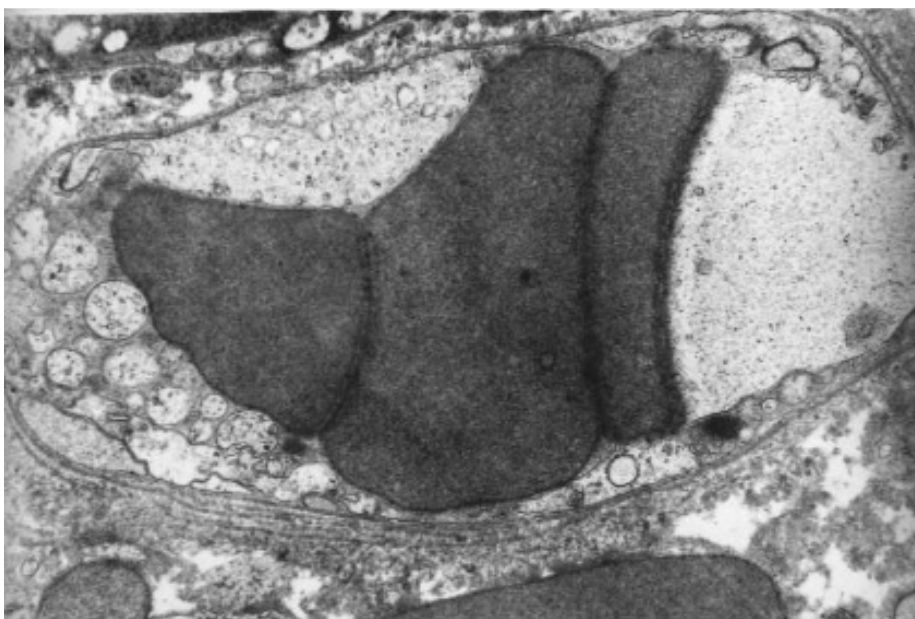


Рис. 2. Обтурація кровоносного капіляра "сладжем" еритроцитів. 36. 12 000.

очевидно, зумовлено збільшенням проникності та пошкодженням мембран еритроцитів [2]. Водночас наявність гемолізованих еритроцитів у кровоносних капілярах є доказом розвитку мікроциркуляторної та гемічної гіпоксії [6, 23].

Встановлено, що плазма крові у просвіті кровоносних капілярів стає електронно-оптично щільною, у просвіті капілярів накопичуються продукти розпаду гемолізованих еритроцитів, зовнішній гемоглобін еритроцитів, ADP і фібрин.

У ході ультрагістохімічного дослідження виявлено, що ДКМП супроводжується значним зменшенням кількості продуктів Mg^{2+}, Na^+, K^+ -АТРазної реакції (рис. 3), що може свідчити про виражене пригнічення активності мембранозв'язаного ферменту. Пригнічення активності Na^+, K^+ -АТРази супроводжується підвищенням "жорсткості" мембрани еритроцитів і зменшенням їх здатності до деформації, що призводить до пошкодження ендотелію та зменшення швидкості кровобігу [11, 9].

У хворих на ЦД 2-го типу з ДКМП (таблиця) виявлено пригнічення активності загальної АТРази ($0,56 \pm 0,012$ мкмоль $P_i \times mg^{-1}$ білка $\times год.^{-1}$) та значне пригнічення Na^+, K^+ -АТРази ($0,04 \pm 0,009$ мкмоль $P_i \times mg^{-1}$ білка $\times год.^{-1}$, $p < 0,001$; $p_i < 0,05$), що сприяє зменшенню текучості плазматичної мембрани та, як наслідок, підвищує чутливість тромбоцитів до дії агоністів [7].

Зміна лабільності мембрани внаслідок активації спонтанного та індукованого вільнорадикального окислення поліненасичених залишків жирних кислот у складі фосфоліпідів може бути одним із чинників, відповідальних за порушення роботи внутрішньоклітинних регуляторних систем, до яких належать простагландини, циклічні нуклеотиди та іони Ca^{2+} [29, 33, 34]. Рівень активності Na^+, K^+ -АТРази можна вважати параметром, що відображає модифікацію мембран, зміну фізико-хімічних властивостей ліпідного оточення [36]. Зміни в'язкоеластичних властивостей еритроцитів зумов-

люють утруднення дифузії кисню та розвиток тканинної гіпоксії. Встановлено взаємозв'язок між ступенем гіпоксії, рівнем холестерину та порушенням мікроциркуляції, зокрема, підвищеною агрегацією тромбоцитів [11, 29].

На поверхні еритроцитів і ендотеліоцитів утворюються скупчення глікопротеїнів, що призводить до підвищення "липкості" та адгезії — "прилипання" формених елементів крові до судинної стінки. Внаслідок пошкодження мембрани еритроцитів відбувається гемоліз, розвивається гемічна гіпоксія, а у судинне русло надходить велика кількість гемоглобіну, зруйнованих ендотеліоцитів і продукту АТРазної реакції — ADP, який є потужним активатором агрегації тромбоцитів [11, 14, 36].

Відомо, що у патогенезі діабетичних мікро- та макросудинних порушень значне місце належить порушенням ліпідного обміну і, зокрема, підвищенню концентрації триацилгліцеринів (ТГ) у плазмі крові [1, 13, 16].

Зокрема, зміни структурно-функціональних властивостей еритроцитів і підвищення їх агрегаційних властивостей значною мірою зумовлено порушенням ліпідного складу мембран. У ході ультрагістохімічного дослідження виявлено накопичення продукту реакції на ТГ у мембранах і між мембранами еритроцитів (рис. 4). Акумуляція ТГ на мембранах еритроцитів призводить до змін структурно-функціональних властивостей біомембран, підвищення "жорсткості", посилення здатності до агрегації, зменшення здатності до деформації, що супроводжується зниженням швидкості кровобігу. Адсорбція ТГ на мембрані еритроцитів сприяє зменшенню електричного негативного заряду останньої, що призводить до змін структурно-функціональних властивостей, посилення агрегації. Одночасно спостерігається накопичення ТГ у вигляді триацилгліцеринових сполук — "місточків" між агрегованими еритроцитами (рис. 1, 5), еритроцитами та ендотелієм кровоносних капілярів (рис. 1).

Таблиця

Активність Na^+, K^+ -АТРази в мембранах еритроцитів у хворих на ЦД 2-го типу з ДКМП ($M \pm m$)

Показники	Контрольна група (n= 12)	Хворі без ДКМП (n= 15) 1-а група	Хворі з ДКМП (n= 17) 2-а група
Загальна АТРаза, мкмоль $P_i \times mg^{-1}$ білка $\times год.^{-1}$	$0,64 \pm 0,018$	$0,52 \pm 0,042$ $P < 0,01$	$0,56 \pm 0,012$ $P > 0,05$; $P_i > 0,05$
Na^+, K^+ -АТРаза, мкмоль $P_i \times mg^{-1}$ білка $\times год.^{-1}$	$0,12 \pm 0,013$	$0,07 \pm 0,011$ $P < 0,01$	$0,04 \pm 0,009$ $P < 0,001$; $P_i < 0,05$

Примітка: p — порівняно з показниками контрольної групи; p_i — між показниками 1-ї та 2-ї груп.

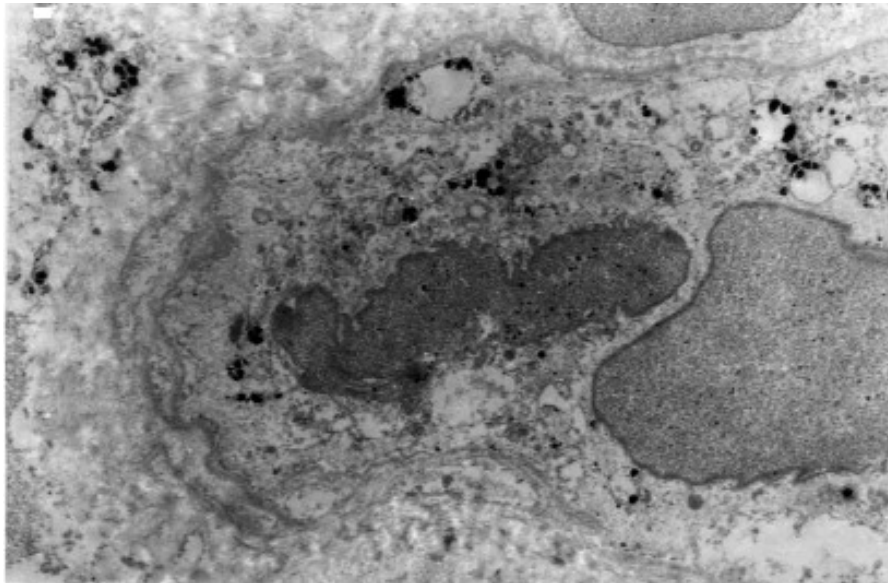


Рис. 3. Гемолізований еритроцит зі зниженням Na^+ , K^+ -АТРазної активності. Продукт Na^+ , K^+ -АТРазної реакції. 36. 13 000.

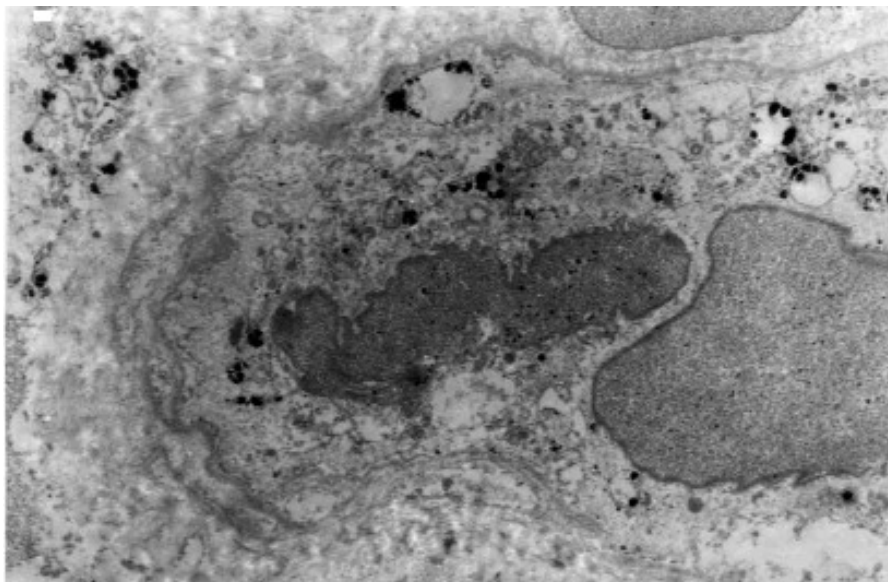


Рис. 4. Накопичення продукту реакції на триацилгліцерини в мембрані еритроцита. 36. 22 000.

Вищеописані зміни сприяють зменшенню швидкості кровотоку, порушуючи тим самим мікроциркуляцію, що супроводжується розвитком мікроциркуляторної гіпоксії [3, 12, 18].

У хворих на ЦД 2-го типу у 2-3 рази частіше виникає гіперліпідемія, що підвищує ризик розвитку атеросклерозу, серцево-судинних захворювань. Гіпертриацилгліцеринемія та зменшення концентрації ліпопротеїнів високої щільності — основні прояви порушень ліпідного обміну за ЦД. Нами у хворих на ЦД 2-го типу встановлено збільшення концентрації пре- та, надто, постпрандіальних ТГ

($2,9 \pm 0,07$ ммоль/л, $p < 0,001$), 3Х ($7,54 \pm 0,15$ ммоль/л, $p < 0,001$), β -ліпопротеїнів ($4,75 \pm 0,11$ ммоль/л, $p < 0,001$) і зменшення концентрації α -ліпопротеїнів ($0,42 \pm 0,09$ ммоль/л, $p < 0,001$). Одночасно шляхом ультрагістохімічного дослідження виявлено накопичення продукту реакції на ТГ у мембрані еритроцитів, триацилгліцериновий "місток" між агрегованими еритроцитами (див. рис. 1, 5). Збільшення рівня загального холестерину та молярного співвідношення холестерин/фосфоліпіди в мембранах еритроцитів, поряд зі зсувами фосфоліпідного спектра, сприяють зміні текучості їх ліпідної фази

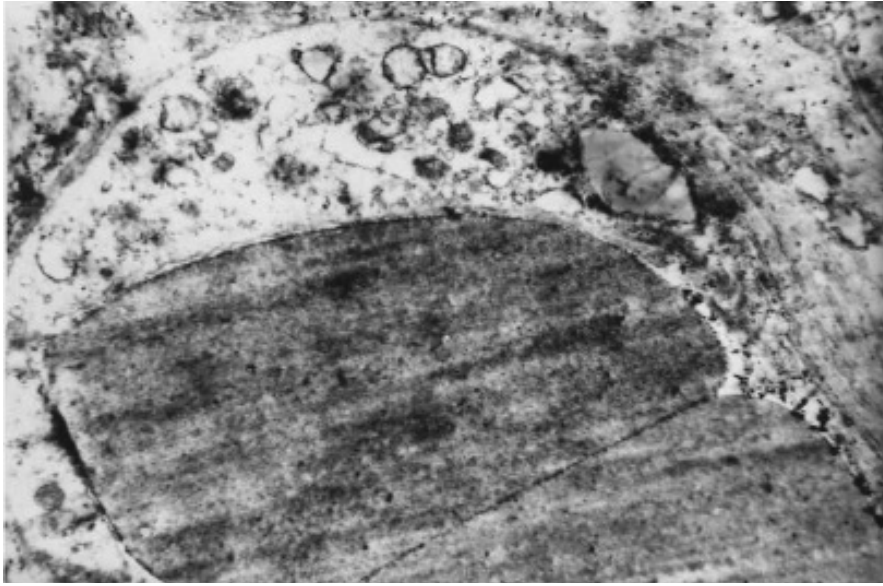


Рис. 5. Накопичення триацилгліцеринових сполук — "місточків" між агрегованими еритроцитами. Зб. 24 000.

(відповідно мембрана стає ригіднішою), а також збільшенню агрегаційних і коагуляційних властивостей крові [11].

Відомо, що за ЦД спостерігається активація перекисного окислення ліпідів. Деструкцію мембран як патологічний процес зумовлено насамперед залученням ліпідів мембран клітин до процесів ПОЛ, що призводять до змін ліпідно-білкових зв'язків у мембрані. Нами встановлено, що діабетична кардіоміопатія супроводжується більш вираженою активацією процесів ПОЛ ($165,4 \pm 6,4 \text{ мкМ} \times \text{мл}^{-1} \times \text{год}^{-1}$; в умовах фізіологічної норми — $105,6 \pm 1,6 \text{ мкМ} \times \text{мл}^{-1} \times \text{год}^{-1}$; $p < 0,001$), що у свою чергу сприяє порушенню реологічних властивостей крові, розвитку та прогресуванню діабетичної кардіоміопатії. Порушення вільнорадикальних процесів за ДКМП підтверджує більш виражену метаболічно-тканинну гіпоксію та значний пошкоджувальний ефект ПОЛ у патогенезі судинних ускладнень. Вказані порушення, очевидно, пов'язано з незадовільною компенсацією ЦД, що сприяє розвитку діабетичної кардіоміопатії. Хронічна гіперглікемія та підвищення концентрації HbA1c зумовлюють розвиток метаболічного стресу, внаслідок чого збільшується утворення вільних радикалів, що порушує функцію клітинних мембран і призводить до зміни функції клітин. Інтенсифікація процесів ПОЛ у тромбоцитах є однією з основних причин порушення структури плазматичної мембрани. Це відбувається насамперед за рахунок порушення впорядкованості мембранних фосfolіпідів і збагачення її холестерином [28, 31].

Інтенсифікацію процесів ПОЛ у тромбоцитах за ЦД також вважають однією з основних причин по-

рушення структури плазматичної мембрани. Це відбувається у першу чергу за рахунок зростання впорядкованості мембранних фосfolіпідів, збагачення їх холестерином, що сприяє зменшенню текучості останньої і, як наслідок, підвищує чутливість тромбоцитів до дії агоністів. Зміна структурної лабільності плазматичної мембрани та зростання рівня глікованих мембранних білків за цукрового діабету може бути одним із чинників, відповідальних за порушення у роботі внутрішньоклітинних регуляторних систем, до яких належать простагландини, циклічні нуклеотиди, іони Ca^{2+} [33, 41].

Накопичення ТГ у мембранах еритроцитів та активація ПОЛ призводять до змін структурно-функціональних властивостей біомембран, що сприяє порушенню метаболізму клітин, зниженню деформації еритроцитів і посиленню їх адгезії та агрегації [12, 8]. Виявлені нами "місточки" глікопротеїнів і фібрину, які з'єднують агреговані еритроцити між собою та з ендотелієм судин, зменшення деформації клітин крові призводять до утворення агрегатів тромбоцитів і еритроцитів, що викликає оклюзію мікросудин [11, 41].

Прогресування діабетичних макро- та мікросудинних порушень сприяє появі великої кількості "спустошених" тромбоцитів із цілком втраченими тромбоцитарними α -гранулами. Внаслідок деградації тромбоцитів у просвіт капілярів виходять біологічно активні речовини, серед яких особливе значення належить ADP, фібриногену, β -тромбоглобуліну та серотоніну, які беруть активну участь у процесі внутрішньосудинного мікротромбоутворення [3, 11, 12, 27, 29].

Встановлено, що тромбоглобулін, який виділяється у процесі тромбоцитарної агрегації, спричинює пошкодження ендотелію капілярів. Посилення адгезійно-агрегаційних властивостей тромбоцитів не лише зумовлює внутрішньосудинне тромбоутворення, але й сприяє розвитку латентного (хронічного) внутрішньосудинного зсідання крові (ДВЗ-синдрому), прогресуванню діабетичних судинних порушень [3, 12, 14, 18].

У просвіті кровоносних капілярів одночасно з'являються агрегати еритроцитів і тромбоцитів із випадінням фібрину (рис. 6), що призводить до розвитку хронічного дисемінованого внутрішньосудинного зсідання крові (ДВЗ-синдрому). Звуження просвіту капілярів у поєднанні з агрегацією клітин крові та внутрішньосудинним зсіданням є причиною руйнування судин, виникнення плазморагій.

Практично всі сучасні теорії визнають, що механізм виникнення та прогресування атеросклеротичних ушкоджень пов'язано з порушенням взаємодії клітинних і гуморальних чинників зсідання крові зі стінкою артерій, а провідна роль у розвитку коронарної недостатності належить атеросклеротичному ураженню судин, порушенню адгезійно-агрегаційних властивостей клітин крові, насамперед тромбоцитів, порушенню тонуусу коронарних артерій (схильності до вазоконстрикції) [6, 14, 17, 19, 37, 40].

Причинами несприятливого впливу ЦД на перебіг і наслідки діабетичної кардіоміопатії, ІХС можуть бути:

1. Судинні чинники, перш за все збільшення розповсюдження та вираженості коронарного ате-

росклерозу. Зниження коронарного резерву у хворих на ЦД із ІХС викликають також діабетична мікроангіопатія коронарних судин і значна дисфункція судинного ендотелію.

2. Підвищення протромбогенного потенціалу крові за рахунок активації гомеостазу тромбоцитів і чинників плазми крові, пригнічення фібринолізу.

3. Вегетативна нейропатія — зниження тонуусу парасимпатичного відділу вегетативної нервової системи та підвищення тонуусу її симпатичного відділу.

4. Порушення метаболізму міокарда за ЦД, зокрема, збільшення споживання міокардом вільних жирних кислот і кетонівих тіл, а також зменшення окислення глюкози. Активація обмінного механізму призводить до надмірного накопичення у цитоплазмі кардіоміоцитів іонів Ca^{2+} , зумовленого акумуляцією лактату та протонів внаслідок зменшення утилізації пірувату, оскільки надлишок іонів Na^{+} у цитоплазмі викликає посилення обміну [1].

Діабетична кардіоміопатія супроводжується вираженими змінами ультраструктурної організації тромбоцитів, порушенням цілісності цитоплазматичної мембрани, появою у просвіті капілярів мегатромбоцитів (великих, так званих "молодих" кров'яних клітин), які є функціонально активнішими (рис. 7, 8). Мегатромбоцити цілком обтурують просвіт капілярів. У просвіті капілярів виявлено значну кількість "спустошених", дегранульованих тромбоцитів (рис. 6), що супроводжується масивним надходженням до мікроциркуляторного русла біологічно активних речовин, які беруть участь у процесі внутрішньосудинного мікротромбоутворення, і



Рис. 6. У просвіті кровоносного капіляра тромбоцитарний агрегат із випадінням фібрину та дегранульовані тромбоцити. 36. 8 000.

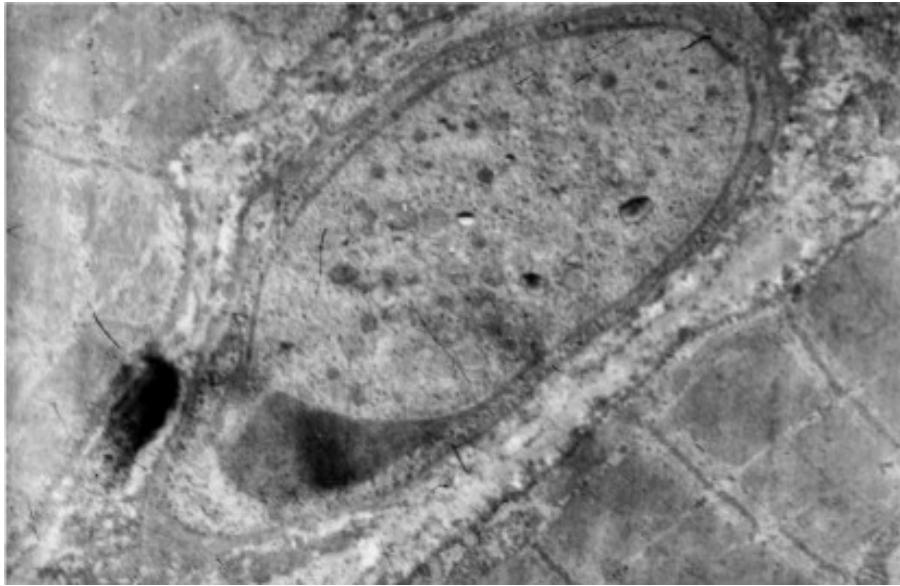


Рис. 7. Дегранульований мегатромбоцит обтурає просвіт капіляра. Зб. 14 000.

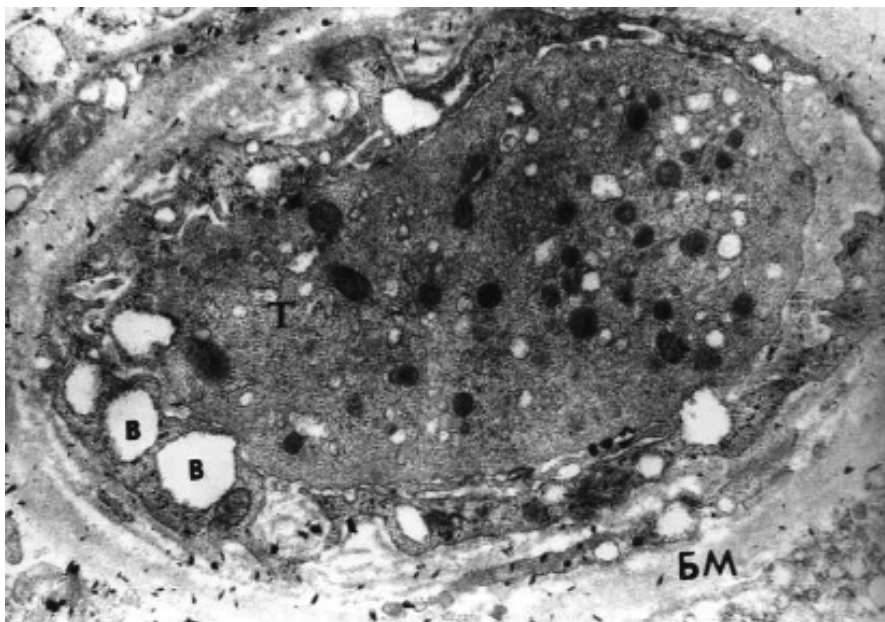


Рис. 8. Просвіт капіляра: мегатромбоцит (Т), дегрануляція вакуолі (В), базальна мембрана (БМ). Зб. 10000.

сприяє утворенню еритроцитарно-тромбоцитарних агрегатів (так званих мішаних). Необхідно акцентувати увагу на тому, що гіперагрегація еритроцитів і тромбоцитів спостерігається в місцях вираженої деструкції ендотеліальних клітин кровоносних капілярів. Виявлені порушення, вочевидь, пов'язано з незадовільною компенсацією цукрового діабету.

Отже, деструкція еритроцитів і тромбоцитів і вивільнення чинників зсідання крові є однією з провідних причин, які призводять до розвитку латент-

ного синдрому ДВЗ — однієї з основних складових патогенезу кардіоміопатії за цукрового діабету.

Зміни ендотеліальних клітин за діабетичної мікроангіопатії. Суттєва роль у розвитку порушень структурно-функціонального стану судинної стінки, мікроциркуляторних зсувів належить у першу чергу змінам структури і функції ендотеліоцитів капілярів. Нами виявлено, що за діабетичної кардіоміопатії спостерігається активація компенсаторно-адапційних процесів, зокрема, посилення активності, збільшення кількості клітинних органел і площі ге-

мато-ендотеліального обміну за рахунок трансформації внутрішньої плазматичної мембрани ендотелію з утворенням множинних цитоплазматичних виступів і мікроворсинок. Збільшення кількості цитоплазматичних виростів і мікроворсинок на люмінальній поверхні ендотеліоцитів свідчить про посилення мікроциркуляторної гіпоксії [3, 23].

Спостерігається набряк, потовщення мікроворсинок ендотелію, які виступають у просвіт кровоносних капілярів, перешкоджаючи кровотоку. Набряк і гіперплазія ендотеліальних клітин супроводжуються частковим звуженням, "стенозуванням" просвіту мікросудин, що призводить до редукції термінального відділу мікроциркуляторного русла та погіршення перфузійності капілярів, до деструктивних змін ендотелію та оголення базальної мембрани капілярів. Ендотеліальна вистілка витоншується внаслідок постійного патологічного мікроклазматозу, оголення базальної мембрани капілярів. Патофізіологічні зміни кровоносних капілярів за ДКМП призводять до пригнічення фібринолітичних властивостей ендотелію, що супроводжується порушенням рівноваги процесів лізису фібрину на поверхні ендотеліальних клітин [3, 10]. Зокрема, проведені нами ультрагістохімічні дослідження виявили накопичення електронно щільного ниткоподібного фібрину в просвіті капілярів і на плазматичній мембрані ендотелію. Встановлено, що ультрагістохімічні зміни ендотелію капілярів корелюють з вищеописаними. Зокрема, у ході цього дослідження виявлено зменшення кількості гранул

продукту Mg^{2+}, Na^+, K^+ -АТРазної реакції в мітохондріях ендотеліоцитів (рис. 9) з одночасним накопиченням у цитоплазмі фаголізосом (рис. 10), ТГ і кінцевого продукту ПОЛ — ліпофусцину (рис. 11), що свідчить про активацію процесів перекисного окислення ліпідів [9].

Одночасно виявлено накопичення продукту реакції на ТГ у базальній мембрані та перикапілярному просторі (рис. 13). Збільшення рівня загального холестерину та молярного співвідношення холестерин/фосфоліпіди в мембранах еритроцитів, поряд зі зсувами у фосфоліпідному спектрі, сприяють зміні текучості ліпідної фази клітини, а також збільшенню агрегаційних і коагуляційних властивостей крові [6, 12].

Проведені ультрагістохімічні дослідження виявили значне зменшення порівняно з фізіологічним станом кількості гранул продукту Na^+, K^+ -АТРазної реакції в плазматичних мембранах, що свідчить про зниження функціональної активності ендотеліальних клітин.

Виявлено, що ДКМП супроводжується значним зменшенням кількості гранул продукту Na^+, K^+ -АТРазної реакції (рис. 10), що може свідчити про суттєве пригнічення активності мембранозв'язаного ферменту. Пригнічення активності Na^+, K^+ -АТРази супроводжується підвищенням "жорсткості" мембрани еритроцитів і зменшенням їх здатності до деформації, що призводить до пошкодження ендотелію та зменшення швидкості кровотоку [21, 10].

Порушення процесів обміну та інтенсивності

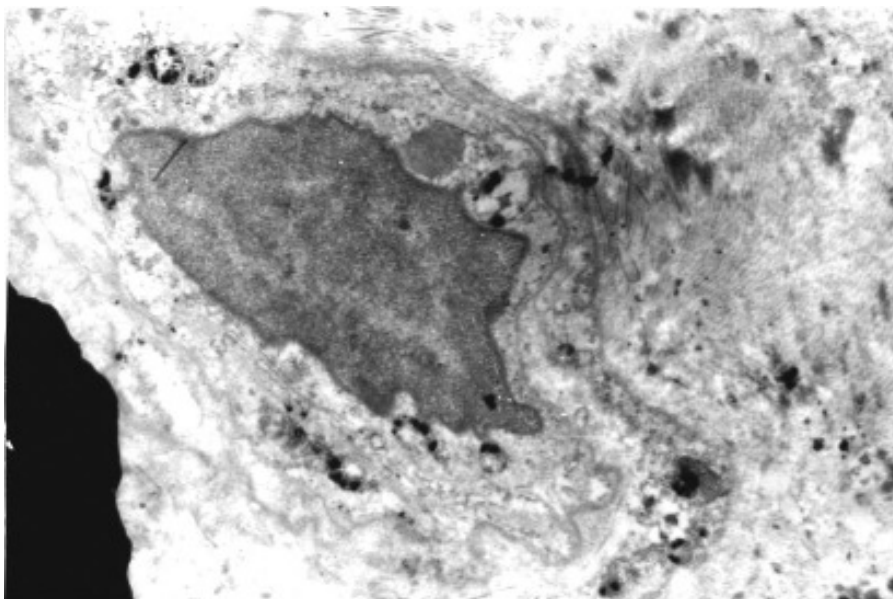


Рис. 9. Локалізація продукту Mg^{2+}, Na^+, K^+ -АТРази на кристах мітохондрій. Зб. 12 000.

транспорту іонів у клітинах сприяє накопиченню іонів Na^+ , зменшенню концентрації іонів K^+ , що супроводжується пригніченням функції Na^+, K^+ -помпи, розвитком внутрішньоклітинного набряку та гіпоксії тканин [8, 11, 20]. У подальшому зміни в ендотеліоцитах кровоносних капілярів набувають незворотного характеру, надто за прогресування діабетичної кардіоміопатії. Постійна "травматизація" ендотеліальних клітин за умов хронічної гіперглікемії призводить до значних реологічних порушень, а отже, до ураження судинної стінки та гемодинамічних зсувів.

Отже, діабетична кардіоміопатія супроводжується приєднанням та прогресуванням структурно-функціональної неспроможності ендотеліоцитів кровоносних капілярів, що врешті рещт призводить до їх загибелі.

Стан базальної мембрани капілярів за діабетичної кардіоміопатії. Встановлено, що нерівномірність товщини базальної мембрани залежить від функціонального стану ендотеліальних клітин, зокрема, спостерігається значніше потовщення базальної мембрани, яка межує із "сірими" і "темними"

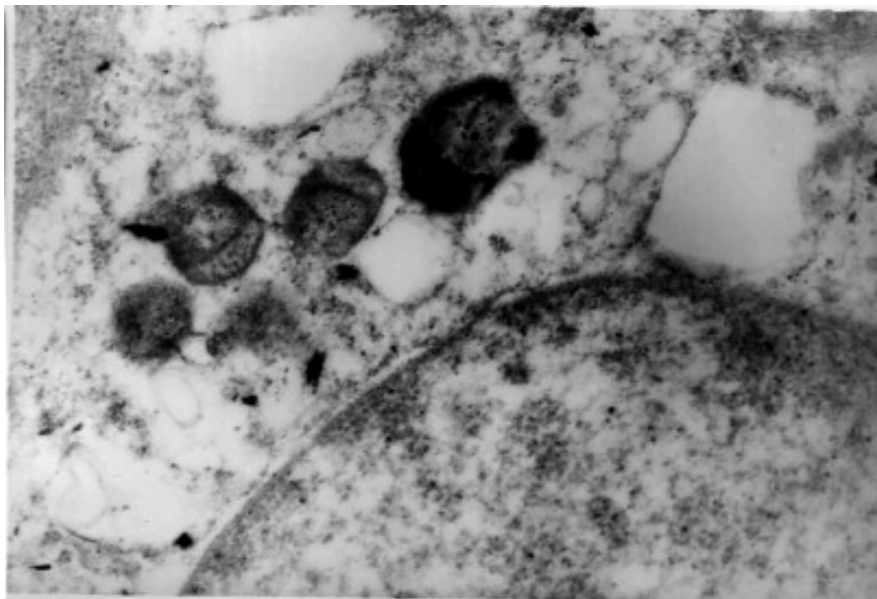


Рис 10. Фаголізосома у цитоплазмі ендотеліоцита. Різке зменшення продукту АТРазної реакції в мітохондріях кровоносного капіляра. Зб. 26.000.

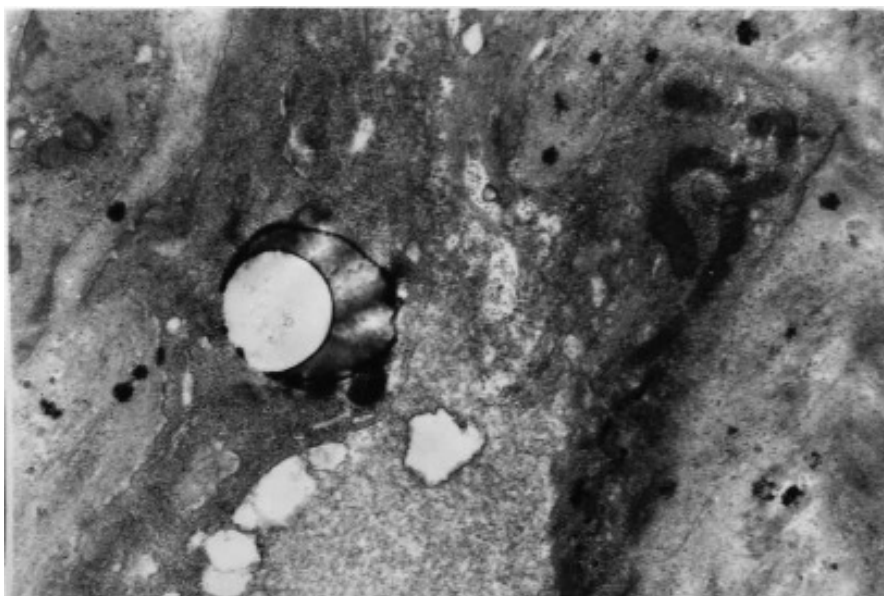


Рис. 11. Фаголізосоми та гранули ліпофусцину в ендотелії кровоносного капіляра. Зб. 26.000.

функціонально активними ендотеліоцитами. Це пояснюється тим, що "темні" ендотеліальні клітини активніші за набряклі "світлі" ендотеліоцити. Особливості морфологічних змін базальної мембрани залежать від інтенсивності процесів обміну, які відбуваються в ендотеліальних клітинах за цукрового діабету. Зокрема, активація сорбітолового шляху обміну глюкози, накопичення сорбітолу в клітинах супроводжується розвитком осмотичного стресу. У хворих на ЦД спостерігається активація сорбітолового шляху обміну глюкози та збільшення концентрації сорбітолу, що, без сумніву, має значення в процесах деструкції капілярів, набряку ендотеліоцитів і базальних мембран [9, 11, 23].

Нами виявлено глікопротеїнові та фібринові "місточки", що з'єднують агреговані еритроцити між собою та з ендотеліальними клітинами. Внаслідок адсорбції на мембрані еритроцитів білків плазми та фібрину зменшується електричний негативний заряд мембрани еритроцитів, що сприяє агрегації й адгезії червоних кров'яних тілець до ендотеліальних клітин [9, 11, 23]. На поверхні еритроцитарної мембрани візуалізовано глікопротеїни, які оточують її, що призводить до змін структурно-функціональних властивостей біомембрани, посилення здатності до агрегації еритроцитів. Спостерігається накопичення на ендотеліальних клітинах глікопротеїнів із підвищенням "липкості", адгезії еритроцитів до ендотеліоцитів, що супроводжується зменшенням швидкості кровотоку, порушенням

мікроциркуляції, розвитком мікроциркуляторної гіпоксії.

Виявлено накопичення ТГ у плазмі та відкладання їх на мембранах еритроцитів, що також призводить до порушення структурно-функціональних властивостей біомембран, зниження здатності до деформації і посилення здатності до агрегації та адгезії еритроцитів. Оточення еритроцитарних мембран глікопротеїнами, триацилгліцеридами сприяє сповільненню транспорту кисню через мембрану [5, 8, 20]. Вказані порушення, пов'язані, очевидно, насамперед із незадовільною компенсацією цукрового діабету, супроводжуються розвитком і прогресуванням діабетичної кардіоміопатії.

Пригнічення Na^+, K^+ -АТФазної активності мембран еритроцитів також має велике значення в активації процесів їх агрегації за діабетичної кардіоміопатії. Проникність еритроцитарних мембран посилюється внаслідок порушення іонної рівноваги, спостерігається гемоліз, вихід гемоглобіну у просвіт капілярів і утворення "тіней" еритроцитів (червоних кров'яних тілець без гемоглобіну), що сприяє розвитку гемічної і тканинної гіпоксії та дистрофічних змін. Зі зниженням Na^+, K^+ -АТФазної активності мембран еритроцитів (див. рис. 9) останні набувають сферичної форми, осміофілія їх різко зменшується, що пов'язано з цілковитою втратою гемоглобіну [6, 13].

Пошкодження ендотелію кровоносних капілярів

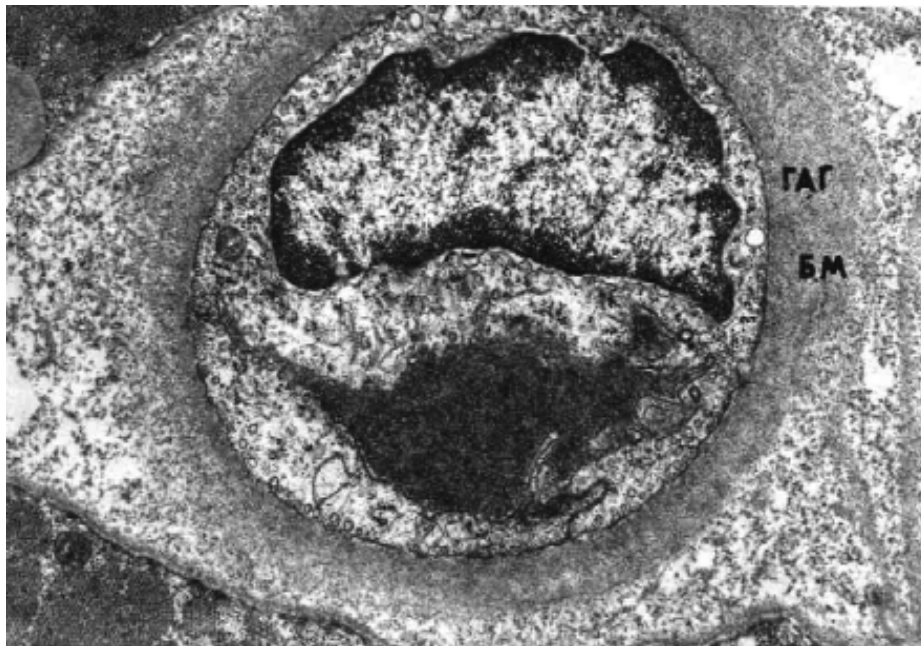


Рис. 12. Накопичення глікозаміногліканів (ГАГ) у потовщеній базальній мембрані (БМ) кровоносного капіляра. 36. 14000.

за діабетичної кардіоміопатії супроводжується пенетрацією з просвіту капілярів триацилгліцеринів, глікозаміногліканів, фібрину, детриту зруйнованих клітин та інших продуктів обміну, їх відкладанням у шарах базальної мембрани (рис. 12, 13), що сприяє її потовщенню і відшаруванню перицитів від ендотеліальних клітин. Крім того, це призводить до порушення перицито-ендотеліальної взаємодії та деструкції перицитів. Відомо, що перицити беруть активну участь у передачі імпульсів на ендотеліальні клітини, а також у процесах констрикції капілярів. Ультрагістохімічне дослідження виявило інтенсивні відкладання глікозаміногліканів між шарами базальної мембрани, що сприяє потовщенню, шаруватості та різкому набряку базальної мембрани, відмежуванню перицитів від ендотеліальних клітин. Відомо, що синтез глікозаміногліканів за цукрового діабету — процес інсулінонезалежний, а більша частина глюкози використовується у синтезі глікозаміногліканів ендотеліоцитами. Нами встановлено більш виражене потовщення базальної мембрани з боку прилеглих фібробластів.

Прогресування діабетичної кардіоміопатії супроводжується ущільненням, нерівномірністю, а місцями розпушеністю базальної мембрани (рис. 14).

Очевидно, що товщина базальної мембрани кровоносних капілярів прямо залежить від ступеня тяжкості цукрового діабету, стадії діабетичної кардіоміопатії, тривалості порушень метаболічних процесів.

Зміни перикапілярного простору за діабетичної кардіоміопатії. Шляхом електронномікроскопічного та ультрагістохімічного дослідження виявлено зміни перикапілярного простору. Встановлено, що за діабетичної кардіоміопатії на тлі порушень мікроциркуляції перикапілярний простір "засмічено" і заповнено клітинним детритом (рис. 13, 14). Мікроциркуляторне русло за ЦД "розраховується" за вихід неокислених продуктів за судинну стінку. Перикапілярний простір значно розширено, надто на органічних стадіях діабетичної кардіоміопатії. В інтерстиції верифікуються фрагменти зруйнованих клітин, окремі органели, фібрин. Порушення мікроциркуляції супроводжується збільшенням виходу білків плазми, створюється високий колоїдно-осмотичний тиск із накопиченням рідини. Відстань між капілярами та клітинами в тканинному мікрорайоні збільшується. Накопичення продуктів клітинного розпаду, набряк перикапілярного простору та гіпоксія тканин активно впливають на структурно-функціональний стан фібробластів, що супроводжується утворенням колагенових волокон навколо кровоносних капілярів і сприяє розвитку ангіосклерозу [12, 23].

Отже, у хворих на цукровий діабет 2-го типу з кардіоміопатією спостерігаються структурні зміни перикапілярного простору у вигляді набряку інтерстицію та накопичення продуктів клітинного розпаду, триацилгліцеринів і глікопротеїнів, що призводить до розладів компонентів гістіону та

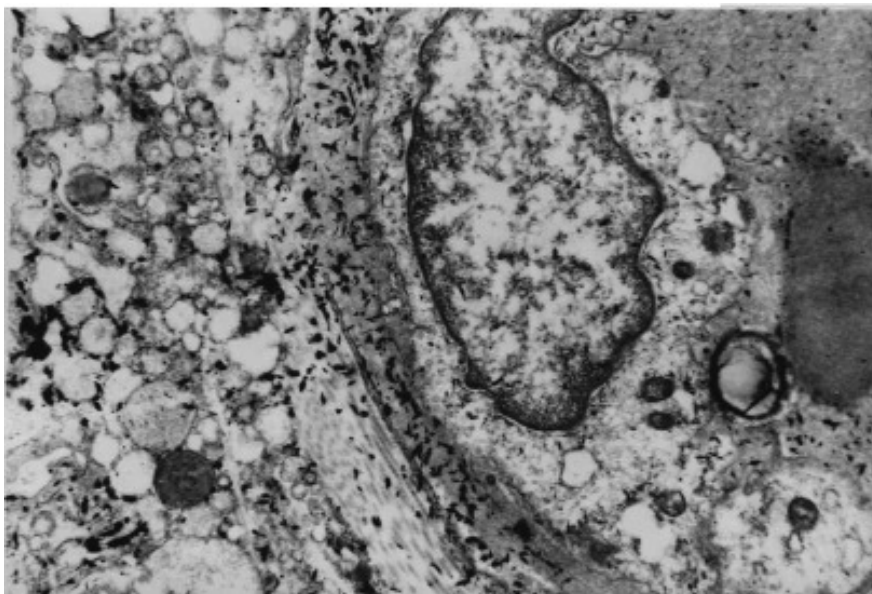


Рис. 13. Продукт реакції на триацилгліцерини у базальній мембрані та перикапілярному просторі. Зб. 16 000.

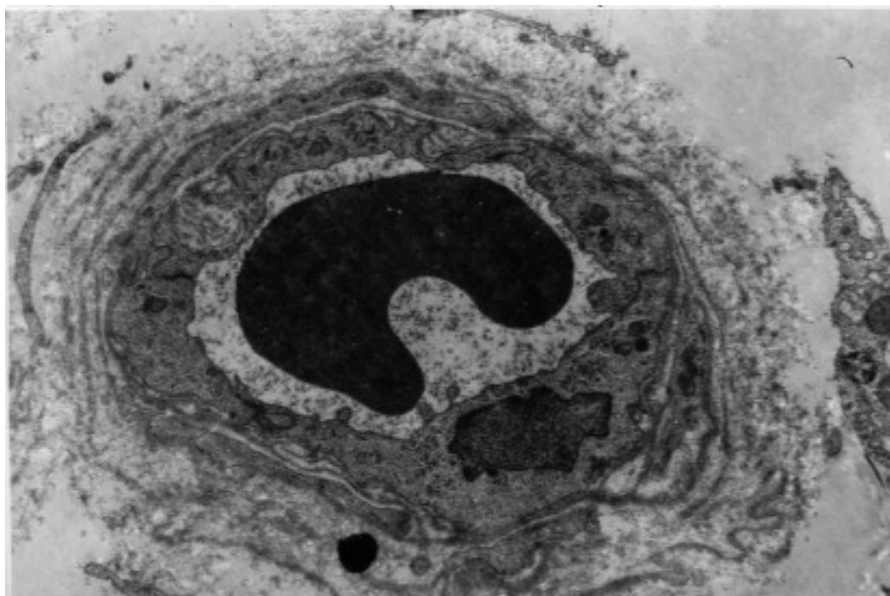


Рис. 14. Еритроцит у просвіті кровоносного капіляра. Нерівномірне потовщення базальної мембрани капіляра. **36. 5 000.**

збільшення радіусу дифузії, сприяє розвитку та прогресуванню перикапілярного склерозу.

Реологічні порушення погіршують дифузію кисню на ділянці мембрана еритроциту — плазма — стінка капілярів — тканина і призводять до гіпоксії тканин. Дисфункція та пошкодження ендотелію із втратою антитромботичних і фібринолітичних властивостей, випадіння фібрину, гіперагрегація еритроцитів і тромбоцитів супроводжуються розвитком латентного ДВЗ-синдрому, мікроциркуляторної, тканинної, гемічної гіпоксії, дистрофії тканин, приєднанням та прогресуванням діабетичної кардіоміопатії.

ВИСНОВКИ

1. У хворих на цукровий діабет 2-го типу з кардіоміопатією спостерігається активація компенсаторно-адаптаційних процесів, зокрема, посилення активності, збільшення кількості клітинних органел і площі гемато-ендотеліального обміну.

2. У хворих на цукровий діабет 2-го типу з кардіоміопатією спостерігається посилення внутрішньосудинної гіперагрегації еритроцитів, діapedез еритроцитів у перикапілярний просвіт, обтурація кровоносних капілярів "сладжами" еритроцитів.

3. набряк і гіперплазія ендотеліоцитів супроводжуються частковим "стенозуванням" просвіту мікросудин і призводять до прогресування деструктивних змін ендотелію та оголення базальної мембрани капілярів, нагромадження фібрину у просвіті капілярів, плазматичній мембрані ендотеліальних клітин.

4. Діабетична кардіоміопатія супроводжується пригніченням активності Na^+, K^+ -АТРази, значним зменшенням кількості гранул продукту $\text{Mg}^{2+}, \text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТРадної реакції в мембранах еритроцитів і мітохондріях з одночасним накопиченням у цитоплазмі фаголізосом, ТГ, ліпофусцину.

5. Спостерігається накопичення триацилгліцеринів у вигляді триацилгліцеринових "місточків" між агрегованими еритроцитами та ендотелієм кровоносних капілярів, збільшення концентрації триацилгліцеринів, ЗХ, β -ліпопротеїнів і зменшення вмісту α -ліпопротеїнів у плазмі крові, активація процесів перекисного окислення ліпідів.

6. Прогресування діабетичної кардіоміопатії супроводжується ущільненням, нерівномірністю, а місцями розпушеністю базальної мембрани.

7. Спостерігаються структурні зміни перикапілярного простору у вигляді набряку інтерстицію та накопичення продуктів клітинного розпаду, триацилгліцеринів і глікопротеїнів, що призводить до розладів компонентів гістіону та збільшення радіуса дифузії, сприяє розвитку і прогресуванню перикапілярного склерозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н. Сахарный диабет и ишемическая болезнь сердца / Е.Н.Амосова // Журн. АМН України. — 2000. — Т. 6, №3. — С. 508-518.
2. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В. М. Патогенез ангиопатий при сахарном диабете / М.И. Балаболкин, Е.М. Клебанова, В.М. Креминская // Сахарный диабет. — 1999. — № 1(2). — С. 2-9.

3. *Бокарев И.Н.* Диссеминированное и постоянное распространенное внутрисосудистое свертывание крови. Синдром ДВС и понятие ПВС / И.Н.Бокарев // Кровобіг та гемостаз. — 2003. — N1. — С. 78-81.
4. *Боровиков В.П., Боровиков И.П.* Statistika. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows. Издание 2-е, стереотипное / В.П. Боровиков, И.П.Боровиков. — М.: Филинь, 1998. — 608 с.
5. *Бухвалов И.Б.* Ультрацитохимический анализ ядерных рибонуклеопротеидов / И.Б.Бухвалов // Усп. совр. биол. — 1982, Вып. 2/5. — С. 174-183.
6. *Волков В.И., Запровальская О.Е.* Тромбоцитарный гемостаз и атерогенез: патогенетические и терапевтические аспекты / В.И.Волков, О.Е.Запровальская // Кровобіг та гемостаз. — 2003. — N1. — С. 18-25.
7. *Вплив нікотинаміду на агрегаційну та антиоксидантну активність тромбоцитів при інсулінзалежному цукровому діабеті* / Т.Р. Махневич, Л.Б. Дробот, А.М. Урбанович [та ін.] // Ендокринологія. — 2000. — Т. 5, №1. — С. 40-46.
8. *Діабетична кардіоміопатія* / О.О. Сергієнко, А.С. Єфімов, Д.А.Єфімов, В.О.Сергієнко. — Львів. — Київ: "Кварт", 2007. — 341 с.
9. *Діабетична кардіоміопатія: патогенез, діагностика, лікування, профілактика: методичні рекомендації* / укл. : О.О.Сергієнко, А.М.Урбанович, В.О. Сергієнко. — Київ. — 2007. — 24 с.
10. *Діабетичні нейропатії* / О.О. Сергієнко, А.С. Єфімов, Д.А.Єфімов, Ю.Я.Кривко. — Львів, Київ: Атлас, 2004. — 212 с., іл.
11. *Єфімов А.С., Сергієнко О.О.* Діабетичні макроангіопатії / А.С. Єфімов, О.О. Сергієнко. — К.: Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, 1994. — 128 с.
12. *Зербино Д.Д.* Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови: варианты микротромбоза / Д.Д. Зербино // Кровобіг та гемостаз. — 2003. — N1. — С. 73-76.
13. *Зубкова С.Т., Тронько Н.Д.* Сердце при эндокринных заболеваниях / С.Т.Зубкова, Н.Д.Тронько. — К.: Библиотека практикующего врача, 2006. — 200 с.
14. *Коркушко О.В., Лишневская В.Ю.* Современные представления о синдроме миокардиальной ишемии / О.В.Коркушко, В.Ю.Лишневская // Кровобіг та гемостаз. — 2003. — N1. — С. 8-17.
15. *Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.* Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н.Лапач, А.В.Чубенко, П.Н.Бабич. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
16. *Лапшина Е.Ф., Заводник И.Б.* Структурные изменения эритроцитарных мембран в присутствии свободных жирных кислот и их производных / Е.Ф.Лапшина, И.Б.Заводник // Биол. мембр. — 1995. — Т. 12, №2. — С. 157-163.
17. *Лишневская В.Ю.* Антиагреганты в терапии пациентов с ишемической болезнью сердца / В.Ю. Лишневская // Кровобіг та гемостаз. — 2003. — N1. — С. 98-102.
18. *Малая Л.Т., Дыкун Я.В.* Гемостаз и острые коронарные синдромы — от фундаментальных исследований к клинической практике / Л.Т.Малая, Я.В.Дыкун // Кровобіг та гемостаз. — 2003. — N1. — С. 26 — 33.
19. *Мищенко Т.С.* Вторичная профилактика ишемического мозгового инсульта / Т.С.Мищенко // Укр. Мед. Час. — 2001. — Т. IX/X, N5. — С. 9-18.
20. *Сергієнко О.О.* Практична діабетологія / Сергієнко О.О. — К.: Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П.Комісаренка АМН України, 1997. — 172 с.
21. *Сергієнко О.О., Єфімов А.С.* Діабетичні нейропатії: сучасний погляд на проблему (огляд літератури та власних спостережень) / О.О. Сергієнко, А.С. Єфімов // Журн. АМН України. — 2002. — Т. 8, N3. — С. 487-506.
22. *Сергієнко О.О.* Діабетична автономна нейропатія серця (патогенез, діагностика, лікування) / О.О. Сергієнко, А.М.Урбанович. — Львів: Атлас, 1999. — 95 с.
23. *Серов В.В., Шехтер А.Б.* Соединительная ткань / В.В.Серов, А.Б. Шехтер. — М.: Медицина, 1981. — 312 с.
24. *Скибчик В.А., Соломенчук Т.М.* Серцево-судинні захворювання при цукровому діабеті / В.А. Скибчик, Т.М. Соломенчук. — Львів: Галицька видавнича спілка, 2005. — 167 с.
25. *Сміян І.С., Фурдела В.Б.* Діабетична кардіоміопатія у дітей / І.С. Сміян, В.Б.Фурдела. — Львів: КІНПАТРИ ЛТД, 2007. — 240 с.
26. *Стародуб Н.Ф., Артюх В. П.* Содержание SH-групп в отдельных фракциях гемоглобина крыс / Н.Б.Стародуб, В.П. Артюх // Укр. биохим. журн. — 1978. — Т. 50, N1. — С. 76-80.
27. *Топчий І.І.* Зміни складу ейкозаноїдів та тромбоцитарного гемостазу у хворих на стенокардію при ангінальній терапії / І.І. Топчий // Ліки. — 1995. — № 6. — С. 33-38.
28. *Шатилина Л.В.* Перекисное окисление липидов как механизм регуляции агрегационной активности тромбоцитов / Л.В. Шатилина // Кардиология. — 1993. — Т. 116, № 11. — С. 485-487.
29. *Activated platelets in subjects at increased risk of IDDM* / Tschoepe D., Driearch E., Schwipper B., Lampeter E.F. // Diabetologia. — 1997. — Vol. 40, № 5. — P. 573-577.
30. *Adams C.W., Abdulla Y.H., Bayliss O.B.* Histochemical detection of triglyceride esters with specific lipases and a calciumlead sulphid technique // J. Histochem. Cytochem. — 1966. — N14. — P. 385-395.
31. *Altered platelet membrane dynamic properties in type 1 diabetes* / Mazzanti L., Rabini R.A., Fumelli P. et. al. // Diabetes. — 1997. — Vol. 46, № 12. — P. 2069-2074.
32. *Baron D.N., Khan F.A.* Optimal conditions for measurement of Na⁺, K⁺ -ATPase activity of human leucocytes // Clin. Sci. — 1985. — Vol. 68, N 2. — P. 143-149.
33. *Brass L.F., Hoxie J.A., Manning D.R.* Signaling through G proteins and G protein-coupled receptors during platelet activation // Thromb. Haemost. — 1993. -Vol. 70, N 2. — P. 217-223.
34. *Chan P., Pan W.H.* Coagulation activation in type 2 diabetes mellitus: the higher coronary risk of female diabetic patients // Diab. Med. — 1995. — Vol.12. — P. 504-507.
35. *Gomperts E.D., Metz J., Zail S.S.* A red cell protein abnormality in hereditary spherocytosis // British J. Haematol. — 1972. — Vol. 23, N3. — P. 363-370.
36. *Kleiman N.S., Lincoff A.M., Kereiakes D.I.* Diabetes mellitus, glycoprotein IIb/IIIa blockade, and heparin: evidence for a complex interaction in a multicenter trial.

- Epilog investigators // *Circulation*. — 1998. — Vol. 97, N9. — P. 1912-1920.
37. *Laasko M.* Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 diabetes // *Diabetes*. — 1999. — Vol. 48, N7. — P. 937-942.
 38. *Luft J. H.* Fine structure of capillary and endocapillary layers as revealed by ruthenium red. // *Ped. Pros.* — 1966. — Vol. 25. — P. 1773-1783.
 39. *Reunods E.S.* The use of lead citrate at high pil as an electronopaque stain in electron microscopy // *J. Cell. Biol.* — 1963. — Vol. 30. — P. 208-212.
 40. *Trovati M., Anfossi G.* Insulin, insulin resistance and platelet function: similarities with insulin effects on cultured vascular smooth muscle cells // *Diabetologia*. — 1998. — Vol. 41, N6. — P. 609-622.
 41. *Winocour P.D.* Platelets. Vascular disease, and diabetes mellitus // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 1994. -Vol. 72, N1. — P. 295-303.
 42. *WORLD MEDICAL ASSOCIATION DECLARATION OF HELSINKI.* Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. — WMA, 2004. — 32 p.

РЕЗЮМЕ

**Изменения системы гемостаза у
больных сахарным диабетом 2-го типа
с кардиомиопатией**

В.А. Сергиенко

Проведен анализ структурно-функциональных изменений в мембранах клеток, базальной мембране, перикапиллярном пространстве у 29 больных сахарным диабетом 2-го типа и кардиомиопатией. Выявлено, что диабетическая кардиомиопатия сопровождается активацией компенсаторно-адаптационных процессов, усилением активности клеточных органелл, отеком и гиперплазией эндотелиоцитов, изменениями эндотелия кровеносных капилляров, форменных элементов крови, что сопровождается прогрессированием деструктивных изменений. Одновременно наблюдаются угнетение активности Na^+, K^+ -АТФазы и уменьшение продуктов Na^+, K^+ -АТФазной реакции в мембранах эритроцитов, накопление в цитоплазме фаголизосом, триацилглицеринов и продуктов

распада, липофусцина, а также активация процессов перекисного окисления липидов. Прогрессирование диабетической кардиомиопатии сопровождается уплотнением, а местами разрыхленностью базальной мембраны. Наблюдается отек интерстициального пространства и накопление продуктов распада клеток, триацилглицеринов и гликопротеинов. Выявленные изменения способствуют повреждению эндотелиальных клеток, ухудшению реологических свойств крови и, соответственно, повреждению сосудистой стенки.

Ключевые слова: сахарный диабет 2-го типа, диабетическая кардиомиопатия, эндотелиоциты, базальная мембрана, перикапиллярное пространство, липиды, мембранные ферменты.

SUMMARY

**Changes of homeostasis system in
type 2 diabetes mellitus patients with
cardiomyopathy**

V. Serhiyenko

It was analysed the state of structurally — functional changes of cells membranes, basal membrane, pericapillary space in 29 Type 2 diabetes mellitus patients with cardiomyopathy. It is established that diabetic cardiomyopathy is accompanied with activation of compensatory-adaptative processes, intensification of intracellular organelles activity, edema and hyperplasia of endotheliocytes that are accompanied by progressing of destructive endothelium changes. Simultaneously it is observed depressing of Na^+, K^+ -ATPase activity in the erythrocytes membranes, accumulation of liposomes, triglycerides, lipofuscin in the cytoplasm, activation of lipid peroxidation. Progressing of diabetic cardiomyopathy is accompanied by compaction, but in some parts by loosening of basal membrane. Edema of interstitial spaces and accumulation of desintegration products of cells, triglycerides and glycoproteins are observed. This caused damaging of endothelial cells, rheological disorders and, insuring of vascular wall.

Key words: Type of 2 diabetes mellitus, diabetic cardiomyopathy, endotheliocytes, basal membrane, pericapillary space, lipids, membrano-bound enzymes.

Дата надходження до редакції 05.01.2009 р.