

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА**

**Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів
Кафедра біохімії та біотехнології**

**БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТРОМБОЦИТАРНОЇ ТА
КОАГУЛЯЦІЙНОЇ ЛАНОК ГЕМОСТАЗУ ЗА УМОВ ПЕРЕБІГУ
ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ВІКУ**

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – другий (магістерський)

Виконала: студентка VI курсу, групи 611-М
спеціальності 091 біологія
(освітня програма «біохімія та
лабораторна діагностика»)
Анна СЛОБОДЯН
Керівник: к.б.н. Іванна НИКОЛАЙЧУК

*До захисту допущено
на засіданні кафедри
протокол № _____ від _____ 2023 р.
Зав. кафедрою _____ проф. Копільчук Г.П.*

Чернівці – 2023

Анотація

Магістерська робота присвячена аналізу клініко-лабораторних та біохімічних показників тромбоцитарної та коагуляційної ланок гемостазу за умов перебігу цукрового діабету 2 типу в залежності від віку.

У роботі проаналізовано зміни кількості тромбоцитів, їх середнього об'єму та ширини розподілу, тромбокрит, а також вміст D-димеру та концентрація фібриногену.

Показано, що за умов перебігу цукрового діабету 2 типу максимально виражений тромбоцитоз зі збільшенням показника тромбокриту спостерігається у категорії хворих віком більше 60 років. Підвищення кількості тромбоцитів за рахунок зростання показника їх середнього об'єму (MPV) та ширини розподілу (PDW) відбувається лише в хворих із цукровим діабетом 2 типу вікової категорії більше 60 років.

У сироватці крові хворих цукровим діабетом 2 типу спостерігається зростання рівня D-димеру та концентрації фібриногену незалежно від вікових особливостей пацієнтів.

Ключові слова: тромбоцити, D-димер, фібриноген, гемостаз, цукровий діабет 2 типу

Annotation

The master's thesis is devoted to the analysis of clinical, laboratory and biochemical indicators of the platelet and coagulation links of hemostasis under the conditions of the course of type 2 diabetes depending on age.

Changes in the number of platelets, their average volume and width of distribution, thrombocrit, as well as D-dimer content and fibrinogen concentration were analyzed in the paper.

It is shown that under the conditions of the course of type 2 diabetes mellitus, the most pronounced thrombocytosis with an increase in thrombocrit is observed in the category of patients over 60 years of age. An increase in the number of platelets due to an increase in their average volume (MPV) and distribution width (PDW) occurs only in patients with type 2 diabetes mellitus over the age of 60.

In the blood serum of patients with type 2 diabetes, an increase in the level of D-dimer and the concentration of fibrinogen is observed, regardless of the age characteristics of the patients.

Key words: platelets, D-dimer, fibrinogen, hemostasis, type 2 diabetes

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ **А.С. Слободян**
(підпис)

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ЦД – цукровий діабет

ЦД1 – цукровий діабет 1 типу

ЦД2 – цукровий діабет 2 типу

ДКА – діабетичний кетоацидоз

ССЗ – серцево-судинні захворювання

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
Розділ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1. Сучасні уявлення про цукровий діабет.....	8
1.2. Загальна характеристика системи згортання крові.....	15
1.3. Стан системи гемостазу за умов перебігу цукрового діабету.....	19
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	20
2.1. Об'єкти та методи досліджень.....	20
2.2. Визначення кількості тромбоцитів.....	21
2.3. Оцінка тромбоцитарних індексів.....	22
2.4. Визначення рівня D-димеру.....	22
2.5. Визначення концентрації фібриногену.....	23
2.6. Статистичний аналіз результатів.....	24
Розділ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	25
ВИСНОВКИ.....	
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	
ДОДАТКИ.....	

ВСТУП

Однією з ключових проблем двадцять першого століття є проблема захворюваності на цукровий діабет, через який страждає понад 537 мільйонів людей. Науковці припускають, що 50% випадків все ще не є діагностованими. Як відомо, ця хвороба впливає на загальний стан організму, внаслідок чого існує ризик розвитку інших супутніх захворювань. Найбільш суттєвою характеристикою даного стану є гіперглікемія та інсулінозалежність, які впливають на такі показники організму, як активність тромбоцитів, антикоагуляції та фактори зсідання крові [1].

Цукровий діабет вражає кожну групу населення, починаючи від дітей, закінчуючи людьми похилого віку. Так, згідно з даними *International Diabetes federation* близько 16,7% жінок під час вагітності спостерігали прояви глікемії. У 48 % випадків виявлення цукрового діабету 1 типу в 2022 році, хворобу діагностували в людей віком до 20 років [19].

Основною першопричиною збільшення кількості захворювання на цукровий діабет 2 типу є ожиріння, що в подальшому, найбільш вірогідно, сприятиме частішанню випадків захворюваності на ішемічну хворобу серця. Крім цього, ожиріння, а також такі фактори як гіпертонія та гіперхолестеринемія є одними з ключових для розвитку атеросклерозу, котрий сприяє запаленню в організмі. Саме атеротромботичні ускладнення є найбільш небезпечними факторами при цукровому діабеті, котрі можуть призвести до летальних наслідків. Не дивлячись на прогрес сучасних досліджень, саме ожиріння, гіпертонія, дисліпідемія залишаються факторами ризику, що в окремих випадках можуть призводити до ішемічної хвороби у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу. Це і є однією з надважливіших причин, котрі спонукають до поглибленого вивчення складності механізмів, котрі сприяють атеротромботичним ускладненням [38].

Однією з фундаментальних структур організму людини, що відповідають за збереження його життєдіяльності, є система зсідання крові. Вона відіграє одну із ключових ролей в забезпеченні нормальної активності

організму. Перші дослідження цієї системи проводились ще в минулих століттях такими науковцями, як Morawitz P., Davie E.W., Ratnoff O.D., Macfarlane R.G. Окрім перелічених видатних людей, також надзвичайно великий внесок зробили Hoffman M., Monroe D.M. та інші [29].

Порушення функціонування системи гемостазу несуть в собі спадковий характер. До основних захворювань відносять гемофілію А і В, хворобу фон Віллебранда (VWD), синдром Бернара-Сульє, тромбастенія Гланцмана тощо [9].

Характерними ознаки цукрового діабету 2 типу насамперед є: підвищена коагуляція, порушення фібринолізу, ендотеліальна дисфункція та гіперреактивність тромбоцитів [38].

Патогенез цукрового діабету 2 типу часто характеризується ендотеліальною дисфункцією організму. Важливу функцію виконує ендотелій, беручи безпосередню участь в процесі формування атеросклеротичної бляшки, котра, в свою чергу, відповідає за ішемію. У разі пошкодження ендотелію, у відповідному місці відбувається активація процесу згортання крові, а також мікротромбування. Їхній лізис визначає стан системи фібринолізу за рахунок плазміну, котрий генерується плазміногеном. Дослідження механізмів системи фібринолізу в крові пацієнтів, котрі страждають на цукровий діабет 2 типу, на сьогодні залишається одним із передових предметів досліджень та публікацій. Висновки, котрі можна зробити на основі вже наявних публікацій досліджень, вказують на комплексний вплив багаточисельних найрізноманітніших клінічних і біохімічних факторів на фібринолітичний потенціал у пацієнтів із цукровим діабетом 2 типу [32, 37].

Мета даної роботи – аналіз клініко-лабораторних та біохімічних показників тромбоцитарної та коагуляційної ланок гемостазу за умов перебігу цукрового діабету 2 типу в залежності від віку.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Сучасні уявлення про цукровий діабет

В 2023 році проблема цукрового діабету (ЦД) постає перед людством однією з провідних. Всесвітня організація охорони здоров'я ще вже давно поставила це захворювання на один рівень з такими хворобами, як туберкульоз, малярія та ВІЛ-інфекція, внаслідок чого було проголошено резолюцію ООН у 2006 році про боротьбу з ЦД [45].

Суть цукрового діабету полягає в порушеннях, що характеризуються хронічною гіперглікемією, яка утворюється через порушену дію інсуліну, секрецію інсуліну чи одночасно двох цих чинників. Крім цього, у хворих, що страждають ЦД, є ризик розвитку й інших захворювань, таких як, наприклад, периферичні артеріальні хвороби, захворювання серцево-судинної системи, проблеми з зором та інше [16, 24].

Хворі на цукровий діабет з ускладненнями захворювання серцево-судинної системи знаходяться в зоні ризику смертності. Так, хворі на ЦД 1 типу із ускладненнями серцево-судинної системи становлять 44% смертності, в той час як пацієнти хворі на ЦД 2 типу становлять 52% від всіх смертельних випадків [4, 17, 49].

Табл. 1.1.1.

Особливості негативного впливу цукрового діабету



Табл. 1.1.2.

Ускладнення, спричинені впливом цукрового діабету на організм людини



Крім цього, ускладненням ЦД також виступає рак, деменція, різноманітні інфекції та депресія [5, 10, 24].

Загалом, станом на 2021 рік, на цукровий діабет страждало понад 529 мільйонів людей по всьому світу. Звісно, ця цифра не може бути точною через те, що чимало випадків захворювання не були виявлені медичними установами і, відповідно, не зафіксовані. Як відомо, ЦД найчастіше страждають люди похилого віку і, переважно, це цукровий діабет 2 типу [21].

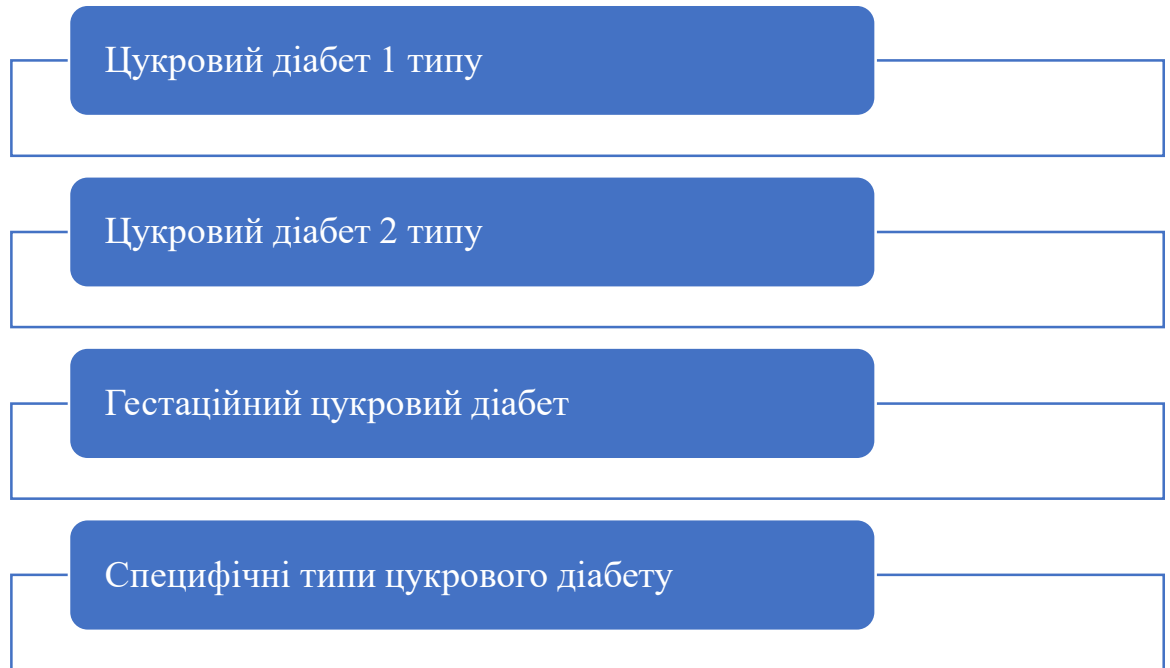
Як відомо, однією з країн, в якій висока частка населення є хворими на цукровий діабет, є Сполучені Штати Америки. Перш за все, це пов'язано з якісним рівнем діагностування та лікування захворювання, в той час як в Україні недіагностованість в два рази вища, ніж в інших країнах. Насамперед, це пов'язано із застарілими методами виявлення відхилення від нормального стану показників і подальшого лікування. Це свідчить про необхідність вдосконалення сучасної медицини в нашій країні [8, 15, 17, 24].

До основних симптомів цукрового діабету належать спрага, порушення функцій зорового аналізатора, часте сечовипускання, сильна втома та ін. Щодо основних ознак, помітних при наявності ЦД, то до них відносять безпричинну втрату ваги, порушення нормального стану організму (погіршення обміну речовин, що призводить до блювання, зневоднення, зміненого рівня свідомості), загострення хронічних хвороб [1, 16].

Існує чимало класифікацій цукрового діабету, та однією із найбільш узагальнених є класифікація Американської Діабетичної асоціації, опублікована в 2020 році.

Табл. 1.1.3

Типи цукрового діабету



Спочатку класифікація цукрового діабету була доволі обмеженою та була представлена всього лише двома типами: цукровий діабет неповнолітніх та цукровим діабетом дорослих, котрі тепер відомі як цукровий діабет 1 типу та цукровий діабет 2 типу відповідно, хоч тепер відомо, що типи ЦД не пов'язані з віком. Але з часом постала серйозна проблема неправильно діагностування й, відповідно, подальшого лікування. Часто зустрічалися випадки, коли людям зрілого та похилого віку діагностували ЦД 2 типу, хоч насправді вони хворі ЦД 1 типу, і навпаки з дітьми та молодими людьми. Тому, надважливою є відповідальне відношення до класифікації та і правильного визначення хвороби. Останнім часом дослідження значно розширили класифікацію, адже було виявлено чимало різноманітних відхилень та порушень (супутні захворювання), котрі потребували особливого лікування. Таким чином, сам процес діагностики захворювання еволюціонував від звичайного визначення типових симптомів до більш детального огляду показників організму, таких як

рівень глюкози в плазмі крові в різні періоди доби, рівень глікованого гемоглобіну, активність тромбоцитів та інше [8].

Процес діагностування ЦД доволі складний і серед випадків захворювання доволі часто констатують «некласифікований цукровий діабет» у випадку, коли зустрічаються симптоми, котрі не підпадають ні під одну існуючу нині класифікацію. Але цей діагноз є тимчасовим і для подальшого лікування є обов'язковим точне констатування типу ЦД у хворого [16, 30].

До специфічних типів діабету відноситься чимало підвидів захворювання. Насамперед, коли мова йде про даний тип ЦД, мають на увазі моногенні синдроми діабету, такі як діабет зрілості молодих чи нетотальний діабет, котрі можуть бути викликані специфічними мутаціями. При захворюванні екзокринної підшлункової залози, говорять про розвиток, до прикладу, панкреатиту або муковісцидозу. Гіперглікемія розвивається внаслідок ураження підшлункової залози певними травмами чи хворобами. При ендогенних порушеннях спостерігається надмірне виділення ензимів-антагоністів інсуліну [43].

Крім перелічених підтипів, також специфічний тип цукрового діабету констатують при ураженні лікарськими засобами або іншими хімічними речовинами, адже деякі з них можуть пошкоджувати чи руйнувати β -клітин, в той час як інші структури погіршують дію та секрецію інсуліну, що, в свою чергу, також призводить до захворювання ЦД [11, 16].

Доволі висока частка населення, що хворіє на ВІЛ-інфекцію та СНІД, також страждають на даний тип ЦД. Розвиток ЦД спостерігається після вживання глюкокортикоїдів, а також після трансплантації органів [1, 27].

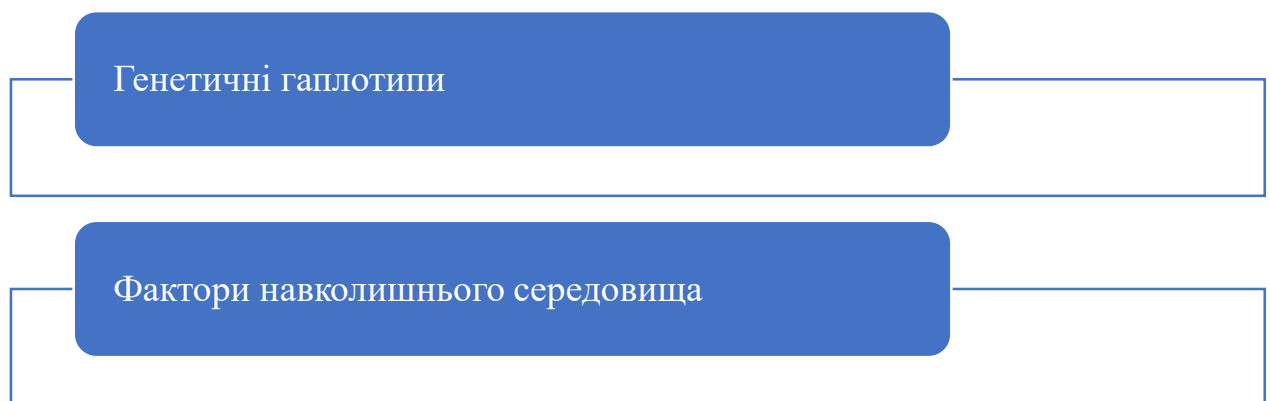
Ще один тип ЦД – гестаційний цукровий діабет, який притаманний переважно вагітним пацієнткам. Діагноз констатують в другому або третьому триместрі вагітності, хоча до того діабет не був явно вираженим. Характерною ознакою є показники гіперглікемії, які виявляються значно нижчими за ті, що притаманні при діагностуванні хворому цукрового діабету [39].

Цукровий діабет 1 типу призводить до гострого дефіциту інсуліну, внаслідок аутоімунного ушкодження β -клітин. Станом на 2019 рік, 5-10% усіх випадків виявлення ЦД припадало саме на перший тип захворювання. Найчастіше воно прогресує в молодому та зрілому віці, хоч і спостерігається в людей кожної вікової категорії. Як відомо, на молодшу частку населення припадає 90% від всіх констатованих випадків захворюваності на ЦД 1 типу. Інші 20% – це старші люди, чий вік варіюється переважно від 35 років і вище [50].

Механізм дії полягає в процесі, який розвивається після пошкодження або руйнації 80% β -клітин, після чого дефіцит інсуліну викликає гіперглікемію або ж сприяє розвитку кетозу [8, 14].

Табл. 1.1.4.

Фактори ризику розвитку цукрового діабету 1 типу



Цукровий діабет 2 типу характеризується рядом ознак, відмінних від ЦД 1 типу. Механізм дії полягає в резистентності до інсуліну, що поєднується із неадекватною компенсаторною інсуліносекреторною відповіддю. При резистентності до інсуліну, що може його викликати або посилити, доволі часто спостерігаються ознаки ожиріння в пацієнтів, що може бути наслідком малорухливого способу життя або через похилий вік [35, 45].

При ЦД 2 типу розрізняють два типи генетичних дефектів, відповідного першого та другого типу. Коли мова йде про перший тип, мається на увазі інсулінорезистентність або ж ожиріння, яке, власне, призводить до інсулінорезистентності. Як вказують наукові джерела, в патогенезі цукрового

діабету 2 типу ключову роль відіграє саме інсулінорезистентність, яка тісно пов'язана із ожирінням [45, 53, 55].

Під другий тип підпадають дефекти, які відповідальні за зниження секреторної активності β -клітин, а також зниження їхньої чутливості до гіперглікемії. Одним із факторів, що відповідальні за погіршення метаболічного контролю, є інсулінорезистентність. Ці показники можуть змінюватися відповідно до способу життя пацієнта: якщо він втрачає або набирає вагу, якщо погіршується його режим харчування, у випадках поганого режиму сну, у випадку стресу тощо [2, 16].

Табл. 1.1.5

Фактори ризику розвитку цукрового діабету 2 типу

Низький рівень концентрації холестеролу ліпопротеїнів високої щільності	
Наявність серцево-судинних захворювань, що може розвиватись, як супутні хвороби, в подальшому призводячи до патологічних станів	
Підвищений вміст триацилгліцеролів в організмі	
Наявність гестаційного діабету в анамнезі може стати каталізатором розвитку діабету 2 типу	
Генетична схильність, при наявності родичів 1-го ступеня спорідненості, в котрих діагностували цукровий діабет	
Вплив факторів зовнішнього середовища.	

Після народження дитини, чия маса коливається від 4 кг і вище; мертвонародження тощо.

Приналежність до повної етнічної групи також є фактором ризику

Як відомо, серед населення Азії доволі часто зустрічаються випадки дисфункції β -клітин. Така ж сама картина постає серед народу Індії, хоч вони і характеризуються більш стрункою статуєю тіла. Крім цього, в зоні ризику також знаходиться населення з етнічною приналежністю до афро-карибської та латино-американської національності [16, 33, 45].

Щодо симптоматики ЦД 2 типу, то вона визначається за допомогою показників стану компенсації вуглеводного обміну. Також, важливим фактором є наявність загострення захворювання – «прояв пізнього діабетичного синдрому» [25, 49].

Табл. 1.1.6.

Клінічні симптоми декомпенсації вуглеводного обміну

Глюкозурія

- виникає внаслідок протікання гіперглікемії, в організмі відбувається виділення глюкози із сечею.

Поліурія

- це стан організму, викликаний внаслідок осмотичного ефекту глюкози.

Гіперглікемія

- це стан організму, який характеризується полідіпсією (спрагою), поліурією, певною сухістю в ротовій порожнині. З плином часу, хворі на цукровий діабет та гіперглікемію опиняються в зоні ризику розвитку ускладнень супутніх хвороб.

Дегідратація

- це стан організму, викликаний внаслідок протікання гіперглікемії, який характеризується певним «обезводненням» клітин.

Полідіпсія

- це стан організму, викликаний дегідратацією, внаслідок якого у хворого спостерігається підвищений рівень споживання рідин.

Для визначення, чи є пацієнт хворим на цукровий діабет, проводять декілька тестів: глюкоза з плазми натще, пероральний тест на толерантність до глюкози, випадкова глюкоза з плазми крові [34, 35, 49].

Крім перелічених тестів, за необхідності, також може бути проведений тест на гемоглобін крові [1, 12].

Надважливим для хворих на ЦД є суворий глікемічний контроль. Це є одним з головних аспектів в лікуванні даного захворювання: самоконтроль в домашніх умовах за допомогою глюкометра, перевірка в лікарні та дотримання вказівок лікаря [42, 48].

1.2. Загальна характеристика системи згортання крові

Концепцію системи згортання крові науковці почали обговорювати ще в минулому столітті, спочатку представивши 4-факторну модель гемостазу.

Пізніше, було запропоновано каскадну модель гемостазу, яку частково використовують й донині задля того, щоб пояснити значення деяких лабораторних показників. Та найбільш досконалою на сьогодні є клітинна або клітинно-асоційована модель гемостазу [28, 47].

Сучасна модель зсідання крові являє собою складну систему, яка функціонує на поверхні тромбоцитів.

Процес гемостазу забезпечує підтримку плинності крові та відповідає за функціонування тромбогенного та антитромбогенного механізмів. Крім цього, за допомогою гемостазу відбувається швидке утворення твердого тромбу для запобігання крововиливам внаслідок пошкодження кровоносних судин.

Для підтримання процесу гемостазу організм задіює такі компоненти: стінки судин, фактори згортання крові, інгібітори, тромбоцити, фібринолітичні системи. Щодо діючих речовин, то процес гемостазу забезпечується тромбіном, що генерується в результаті дії білків, ферментів згортання та тромбоцитів [6, 28].

Фібринолітична система бере участь в процесі загоювання ран, відповідаючи за розчинення тромбів. Крім цього, ця система також забезпечує важливу функцію в кровоносних судинах – це запобігання утворенню тромбів [13, 28].

Більшість факторів згортання крові являють собою серинові протеїнази. Вони знаходяться в плазмі крові в певній кількості і існують в формі зимогенів – це неактивні проензими. Класифікація факторів згортання крові є досить широкою і складною – перші чотири позначаються власними назвами, а інші римськими цифрами. Спочатку виділяють фібриноген, протромбін, тканинний фактор, кальцій, після чого починається нумерація від V і вище. Більшість факторів згортання крові утворюються печінкою і тільки такі три фактора, як III, IV і VIII не виробляються нею [28, 47].

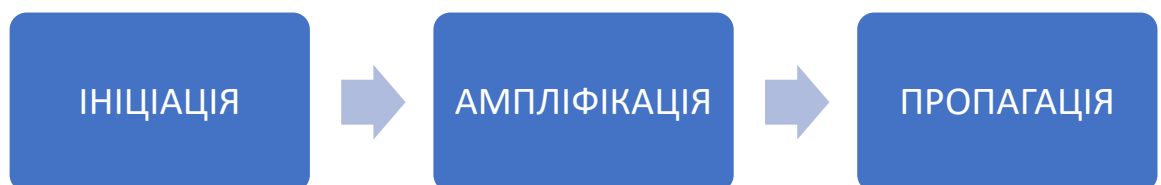
До системи згортання крові також відноситься антикоагуляційна система. В організмі людини наявні природні антикоагулянтні механізми,

котрі виконують функцію регуляції активності прокоагулянтів у крові, внаслідок чого відбувається локалізація тромбоутворення [28].

Табл. 1.2.1.



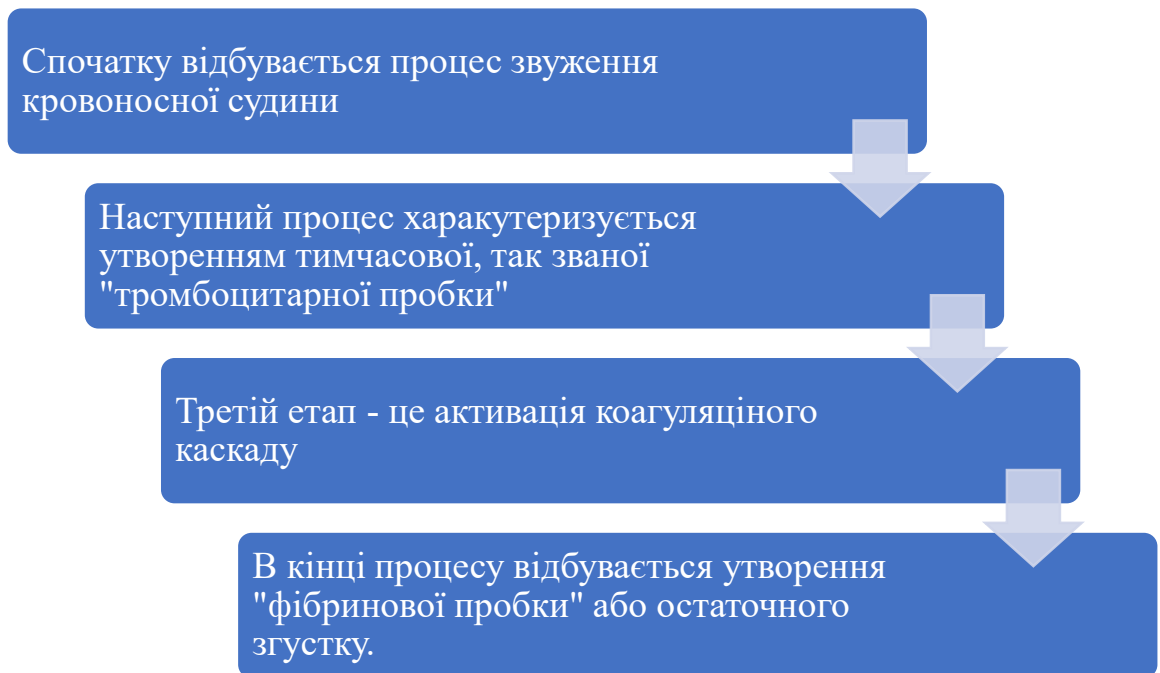
Для здійснення гемостазу, в організмі відбуваються певні гемостатичні процеси, котрі задіюють структури протизгортаючої та фібринолітичної систем. Процес відбується *in vivo*, тобто можливе зовнішнє і внутрішнє зсідання крові. Вирізняють декілька фаз, в ході яких розглядають механізм зсідання крові (Табл. 1.2.2.):



Деякі автори також виділяють ще одну фазу, яка пов'язана із функцією забезпечення гемостазом рідкого стану крові – такий процес називають термінацією [46, 47, 52].

Табл. 1.2.3.

Механізм дії гемостазу



У відповідь на подразник, що діє на судини ендотеліальної поверхні або завдяки вивільненню тканинного фактора з місця травми, система зсідання крові запускає процес активації тромбоцитів та каскад згортання, внаслідок чого відбувається ріст клітин, лізис та інші процеси [29, 19].

Тромбін є ключовим ферментом системи зсідання крові, що своїм функціонуванням в подальшому забезпечує утворення фібринового згустку.

Після цього задіюється фібринолітична система, що забезпечує процес лізису згустку – це відбувається для того, щоб він не перетворився на каталізатор паталогічного ускладнення [6, 7, 18].

Дослідження в області гемостазу є надзвичайно важливими, адже від нормального функціонування даної системи залежить функція згортання крові а також утворення тромбів.

3. Стан системи гемостазу за умов перебігу цукрового діабету

Цукровий діабет тісно пов'язаний із серцево-судинною системою. Цей зв'язок вчені помітили вже давно і визначили, що він проглядається із системою зсідання крові, що включає в себе процеси гемостазу тощо.

У хворих на цукровий діабет 2 типу часто спостерігаються такі ускладнення, як аномальне утворення згустків, амілоїдного фібрину, а також дисфункція прозапальних цитокінів, які тісно пов'язані із дією тромбоцитів.

Чимало досліджень на сьогодні стверджують, що для достовірної діагностики ЦД 2 типу варто звертати увагу на комплексні аналізи на цитокіни, тромбоеластографію, функціонування тромбоцитів, адже відхилення від норми цих показників можуть вказувати на підвищений ризик серцево-судинних ускладнень [26, 36].

Також, при ЦД 2 типу, деякі літературні джерела говорять про підвищений рівень фібриногену та факторів зсідання крові [51].

Такі стани як гіперглікемія та інсулінорезистентність можуть змінювати активність тромбоцитів. Крім цього, вони можуть впливати на кількісні та якісні модифікації коагуляційних та фібринолітичних факторів зсідання крові, що призводить до патологічних станів, що включають в себе утворення стійких до процесу фібринолізу згустків у пацієнтів з цукровим діабетом. У хворих на цукровий діабет 2 типу часто спостерігається підвищена коагуляція крові [17, 31].

Отже, резистентність до інсуліну та гіперглікемія можуть бути каталізаторами подальшого утворення тромбів та тромбозу у пацієнтів з ЦД [23].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкти та методи досліджень

У даній роботі проведено аналіз клініко-діагностичних та біохімічних показників крові, отриманих із виписок історій хвороб пацієнтів, які знаходились на обліку в Зарожанській амбулаторії загальної практики сімейної медицини як структурного підрозділу КЗ «Хотинський центр первинної медико-санітарної допомоги» Дністровського району Чернівецької області в період з 2018 року до 2023 року.

У виписних епікрізах хворих містилася інформація про поетапні спостереження хворого в стаціонарі, коротка інформація з історії госпіталізації та лікування, що відображає розгорнутий клінічний діагноз; скарги, як найбільш важливі відомості з анамнезу про основні етапи перебігу захворювання; основні дані обстежень, які підтверджують основний діагноз, стадії розвитку хвороби, варіанти її перебігу, а також можливі ускладнення даного захворювання чи супутніх патологій.

Переважній більшості пацієнтів був встановлений діагноз – цукровий діабет 2 типу важкого перебігу із супутнім розвитком дифузного кардіосклерозу.

При загальному огляді, стан пацієнтів був задовільний, свідомість ясна, контакт збережений. Будова тіла правильна. Шкіра і видимі слизові оболонки характеризувалися блідим рожевим кольором. Патологічних змін не спостерігалось. При огляді периферійних лімфовузлів та щитоподібної залози збільшення не виявлено. Дихання над легеньми везикулярне, присутні хрипи. На язик не виявлено нальоту, він чистий, вологий. Печінка та селезінка пальпуються. Симптоми Пастернацького від'ємні з двох сторін. Сечовиділення в нормі.

Найбільш повторюваними скаргами серед хворих були: болі в серці (колючі і ниючі), задишка, прискорене серцебиття.

Для обговорення результатів досліджень хворих із цукровим діабетом 2 типу розділили за віком:

I група – хворі з цукровим діабетом 2 типу > 40 років (40–50 років)

II група – хворі з цукровим діабетом 2 типу > 60 років (60–70 років)

В усіх хворих нами проаналізовано показники загального аналізу крові, які відображають стан системи гемостазу (вміст тромбоцитів, середній об'єм тромбоцитів, ширина розподілу тромбоцитів, тромбокрит) та параметри коагулограми, зокрема рівень фібриногену та вміст D-димеру.

2.2. Визначення кількості тромбоцитів

Для підрахунку тромбоцитів використовують метод Фоніо, суть котрого базується на використанні хімічних реактивів: 14% сульфату магнію або 6% етилендіамінтетраацетату натрію (ЕДТА). Зразок крові поміщають в скляну пробірку за допомогою капіляра Панченкова, а потім додають 75 мкл обраного хімічного реактиву – 14% сульфату магнію. Після цього досліджуваний розчин перемішують, наносять на предметне скло і забарвлюють за допомогою барвника (використовується метод Романовського-Гімза) і вже по спеціальних пластинках визначається кількість тромбоцитів за допомогою мікроскопа, після того, як пройде близько трьох годин [52, 32].

Підрахунок тромбоцитів здійснюється за допомогою сітки, нанесеної на окуляр. Паралельний підрахунок тромбоцитів і еритроцитів здійснюється відповідно по секторам сітки, пересуваючи окуляр і це продовжується доти, доки число формених елементів крові не досягне 1000. Важливим є врахування виключно скупчень клітин, а не тих, що розташовані поодинокі в зразку. Розрахунок абсолютної кількості клітин в одиниці об'єму крові проводять за наступною формулою:

$$X = T \times E / 1000, \text{ де}$$

T – кількість тромбоцитів, підрахована під час мікроскопії,

E – абсолютна кількість еритроцитів.

Референтними значеннями кількості тромбоцитів у чоловіків та жінок є $180-320 \times 10^9/\text{л}$.

2.3. Оцінка тромбоцитарних індексів

Тромбокрит (PCT), середній об'єм тромбоцитів (MPV) та ширину розподілу тромбоцитів за об'ємом (PDW), а також тромбокрит (PCT) визначали за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора PENTRA 80 XL (HORIBA ABX, Франція).

2.4. Визначення рівня D-димеру

Метод визначення вмісту D-димеру відносяться до реакцій аглютинації плазми крові або цільної крові. Цей метод є найбільш доступним та поширеним в клінічній практиці визначення D-димеру. Суть методу полягає в наступному процесі: на зшитому D-димері моноклональні антитіла розрізняють епітоп, що знаходиться в плазмі крові або цільній крові [24].

Для проведення дослідження спочатку необхідно забезпечити досягнення кімнатної температури наступних необхідних матеріалів: зразок плазми крові, буфер, тест-касета. Температура повинна знаходитися в межах від 15 до 30 °C. Після цього розпакована з упаковки тест-касета повинна знаходитись на сухій та рівній поверхні. Важливим є забезпечення проведення швидкого тестування, задля того, щоб тест-касета не зіпсувалася, знаходячись не в герметичному пакуванні.

В пробірку з розчинником для зразка необхідно додати 100 мкл плазми крові. Ретельно перемішавши вміст пробірки і за допомогою піпетки потрібно відміряти 120 мкл одержаного розчину, котрий вертикально помістити в лунку тест-касети. На флуоресцентному аналізаторі AFS-1000 вмикається режим «сироватка/плазма». По завершенню цих дій вмикається таймер і очікується зміна у відповідному відділенні тест-касети у вигляді кольорових ліній, за допомогою який можна говорити про результати тесту.

Інтерпретувати результати рекомендується не раніше, ніж через 10 хвилин після закінчення тесту.

В нормі рівень D-димеру становить менше 0–0,55 мкг FEU/мл (мкг фібриноген-еквівалентних одиниць) або 500 нг/мл.

2.5. Визначення концентрації фібриногену

Наразі для визначення вмісту фібриногену найбільш поширеним вважається метод Клауса, суть якого полягає в вимірюванні часу, котрий необхідний для згортання розведеної плазми крові після додавання великої кількості тромбіну [44].

Необхідними матеріалами для проведення тесту є: реагент Dia-FIB, кальцій, консерванти, альфа-тромбін, буфер. Перед початком проведення тесту потрібно провести ретельну підготовку, яка починається з того, що в дистильованій воді розчиняється реагент Dia-FIB, після чого важливим є його зберігання при певній температурі, котра коливається в межах від 20 до 25 °C, як мінімум 30 хв. Перед використанням реагент повинен досягти відповідної температури. Пізніше, після приготування, реагент необхідно прокрутити близько 5-10 разів у горизонтальному положенні, дотримуючись особливої обережності перед використанням. Ні в якому разі реагент неможна збовтувати. Для проведення тестування необхідно перед початком отримати декальциновану плазму, для чого змішується 9 частин незадовго до того набраної венозної крові (3,2%) і 1 частина тринатрію цитрату $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ (109 ммоль/л), пізніше відбувається центрифугування отриманої плазми.

Після підготовки необхідних матеріалів, відбувається власне процедура тестування на фібриноген, котра здійснюється за допомогою напівавтоматичного коагуляційного аналізатора (Coag 4D). Досліджуваний зразок розводиться буфером у співвідношенні 1:10, після чого у відповідну кювету вводиться близько 100 мкл отриманого розчину.

Наступний етап тестування – це інкубація зразка, котра повинна відбуватися при певній температурі (37 °C) близько 2 хвилин, після чого необхідно додати реагент Dia-FIB в кількості 50 мкл в кювету до досліджуваного зразка. В той же час вмикається таймер і відбувається дослідження часу коагуляції зразка.

В нормі концентрація фібриногену в сироватці крові знаходиться в межах 2,0 - 4,0 г/л.

2.6. Статистичний аналіз результатів

Статистичний аналіз даних проводили за допомогою статистичної комп'ютерної програми *Microsoft Office Excel 2019*, що використовується для роботи з електронними таблицями. Вона надає можливості статистичних розрахунків та графічних інструментів.. Для опису розподілу показників визначали середнє значення і стандартне відхилення ($M \pm m$). Достовірною вважали різницю при $p < 0,05$, використовуючи для аналізу t-критерій Стьюдента.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Захворюваність і поширеність цукрового діабету стрімко зростає в усьому світі з загрозливою швидкістю. Цукровий діабет 2 типу (ЦД 2) є найпоширенішою формою діабету, на нього припадає приблизно 90–95% усіх випадків діабету в усьому світі. Окрім впливу на здатність організму використовувати глюкозу, це пов'язано з мікро- та макро-судинними ускладненнями. Задokumentовано, що розширений атеросклероз є ключовим фактором, що призводить до судинних ускладнень у пацієнтів із ЦД 2 типу. Метаболічне середовище ЦД 2 типу, включаючи резистентність до інсуліну, гіперглікемію та вивільнення надлишку вільних жирних кислот, разом з іншими метаболічними аномаліями впливає на судинну стінку через низку подій, включаючи ендотеліальну дисфункцію, гіперактивність тромбоцитів, окислювальний стрес і незначне запалення. Активація цих подій додатково посилює звуження судин і сприяє утворенню тромбів, що в кінцевому підсумку призводить до розвитку атеросклерозу. Усі ці докази підтверджуються клінічними дослідженнями, які повідомляють про важливість ендотеліальної дисфункції та гіперактивності тромбоцитів у патогенезі атеросклеротичних судинних ускладнень [34].

ЦД 2 типу характеризується прогресуючим дефіцитом інсуліну та порушенням функції β -клітин, що накладається на інсулінорезистентність. Це мультисистемне захворювання, пов'язане як з мікро-, так і з макросудинними ускладненнями. Мікросудинні ускладнення включають діабетичну ретинопатію, нейропатію та нефропатію. Макросудинні ускладнення проявляються у вигляді прискореного атеросклерозу, що призводить до важкого захворювання периферичних судин, передчасної ішемічної хвороби серця (ІХС) і підвищеного ризику цереброваскулярних захворювань. Приблизно 80% смертності від цукрового діабету пояснюється тромботичними ускладненнями, з яких 75-80% смертей викликані серцево-судинними ускладненнями. Крім того, пацієнти з ЦД 2-го типу мають у два-

чотири рази вищий ризик повторних атеротромботичних подій і судинних ускладнень порівняно з пацієнтами без ЦД [8].

Аналіз результатів гематологічних показників вказує на те, що за умов перебігу цукрового діабету 2 типу в обох вікових групах хворих спостерігається зростання кількості тромбоцитів (рис. 1). Слід відміти, що якщо в пацієнтів із ЦД 2 типу віком 40–50 років кількість тромбоцитів досягає $380 \times 10^9/\text{л}$ (при нормі $180\text{--}320 \times 10^9/\text{л}$), то у віковій категорії більше 60 років даний показник знаходиться в межах $525 \times 10^9/\text{л}$, що 1,4 рази перевищує значення верхньої межі норми.

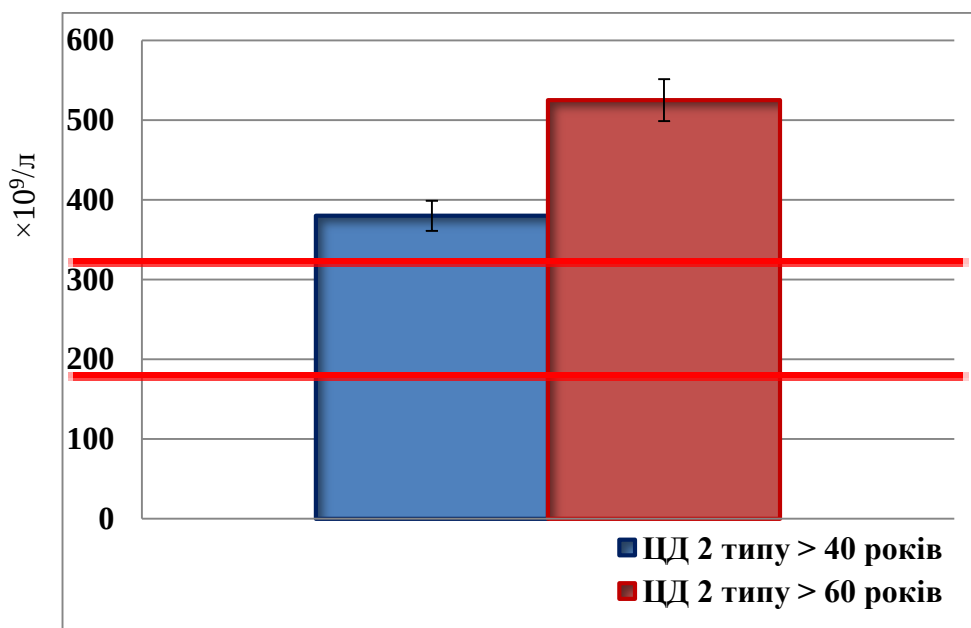


Рис. 1. Кількість тромбоцитів у крові хворих із цукровим діабетом 2 типу

Одним із механізмів підвищення серцево-судинного ризику при цукровому діабеті є підвищений потенціал тромбоутворення в поєднанні з гіпофібринолізмом. Незважаючи на ці відомі аномалії, антитромботична терапія в осіб з діабетом залишається в основному подібною до такої з нормальним метаболізмом глюкози [22].

Щоб зрозуміти патологічний вплив діабету на коагуляцію, давайте нагадаємо фізіологічні функції первинного та вторинного гемостазу, які є важливими компонентами коагуляції. Оскільки ендотелій, що вистилає кровоносні судини, зазнає пошкодження, тканинний фактор і колаген

піддаються впливу субендотеліального матриксу, запускаючи первинний гемостаз. Тромбоцити прилипають до місця ушкодження завдяки зв'язуванню глікопротеїну рецептора поверхні тромбоцитів Ib-IX-V (GPIb-IX-V) із фактором фон Віллебранда (vWF). Зокрема, висока напруга зсуву від кровотоку активує vWF, дозволяючи його домену A1 взаємодіяти з субодиницею GPIb α рецептора GPIb-IX-V тромбоцитів. Вторинне зв'язування рецепторного глікопротеїну VI (GPVI) з колагеном типу 1 і типу 3, який виділяється з субендотелію, спрямоване на подальше посилення приєднання тромбоцитів до місця пошкодження.

Подальша активація тромбоцитів відкриває сайти зв'язування на інтегринах, таких як α IIb β 3 (глікопротеїн IIb/IIIa; GPIIb/IIIa) для багатьох лігандів, включаючи фібриноген, vWF, фібрoneктин і CD40 через сигнальні шляхи «зсередини-назовні» та «ззовні-всередину». Після активації тромбоцити виділяють аденозиндифосфат і тромбоксан A2 через щільні гранули, які зв'язуються з рецепторами P2Y₁/P2Y₁₂ і тромбоксану відповідно. Цей позитивний зворотний зв'язок викликає агрегацію тромбоцитів і сприяє утворенню тромбоцитарного згустку, який згодом сприяє вторинному гемостазу [47].

Поряд з іншими причинами протромботичного стану при ЦД2, дисфункція тромбоцитів відіграє ключову роль. Активація ендотелію шляхом збільшення вивільнення цитокінів і експресії молекул адгезії опосередковує активацію тромбоцитів і адгезію до активованого ендотелію. Порушене ендогенне інгібування тромбоцитів робить тромбоцити більш чутливими до активації, а активований ендотелій забезпечує більше молекул адгезії та агоністів тромбоцитів. Потім активовані тромбоцити опосередковують рекрутинг лейкоцитів, які, у свою чергу, активуються наступною взаємодією. Згодом, після міцної адгезії до активованого ендотелію, лейкоцити трансмігрують і презентують ліпідам і клітинам стінки судини. Це прискорює подальші запальні реакції в судинній стінці та сприяє розвитку атеросклеротичних судинних ускладнень [13].

Підвищення кількості тромбоцитів у вікових групах хворих із цукровим діабетом 2 типу супроводжується аналогічною тенденцією до зростання показника тромбокриту з максимальними значеннями у пацієнтів віком більше 60 років (рис. 2).

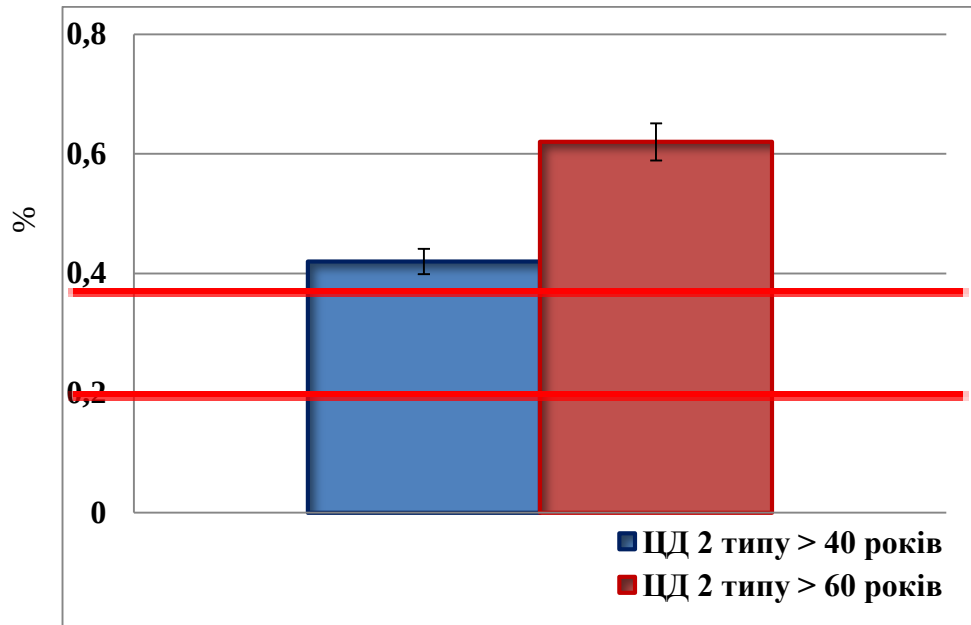


Рис. 2. Показник тромбокриту (PCT) у хворих із цукровим діабетом 2 типу

Тромбокрит (PCT) – показник, що характеризує відсоток тромбоцитарної маси до об'єму крові та використовується для оцінки ризику виникнення кровотечі та тромбозів.

Підвищення рівня тромбокриту майже завжди пов'язане з гіперкоагуляцією: станом, коли зсідання крові стає надмірним. Звідси підвищена ймовірність тромбозів та фатальних ускладнень. Серед причин підвищення тромбокриту може бути:

- ✓ стан після видалення селезінки, оскільки орган виступає депо для формених клітин. Без селезінки організм намагається компенсувати можливий дефіцит клітин, збільшуючи їх синтез;
- ✓ патології системи кровотворення, і натомість яких зростає швидкість продукування тромбоцитів;
- ✓ залозодефіцитна анемія;

✓ цукровий діабет у фазі декомпенсації чи часткового контролю тощо [43].

Необхідно зазначити, що в літературі [10] зазначається про роль так званих «тромбоцитарних мікрочастинок» (ТМЧ). Це позаклітинні везикули, що утворюються з активованих тромбоцитів, розмір яких варіюється від 0,1 до 1 мкм у діаметрі. Їх кількість становлять 70–90 % усіх циркулюючих мікрочастинок. Тромбоцитарні мікрочастинки, збагачені білками, ліпідами та генетичною інформацією, отриманою з активованих тромбоцитів, мають здатність змінювати фенотип і функцію клітин-мішеней. Вони збільшують експресію молекули міжклітинної адгезії-1 в ендотеліальних клітинах шляхом доставки арахідонової кислоти та запальних цитокінів, що призводить до прилипання моноцитів до стінки судини. При цукровому діабеті рівень циркулюючих ТМЧ сильно підвищений, що пов'язано зі швидкістю виведення альбуміну з сечею за умов діабетичної нефропатії. Проте, чи сприяють ТМЧ дисфункції ендотелію клубочків на ранніх стадіях ЦД, досі невідомо.

Отже, за умов перебігу цукрового діабету 2 типу максимально виражений тромбоцитоз зі збільшенням показника тромбокрити спостерігається у категорії хворих віком більше 60 років.

Водночас нами відмічено, що за умов перебігу цукрового діабету змінюється середній об'єм тромбоцитів, причому у групі хворих віком більше 60 років даний показник досягає 25 fL (при референтних значеннях норми 6–13 fL), тоді як у пацієнтів віком 40–50 років підвищення даного показника зареєстровано на верхній межі фізіологічних значень (рис. 3).

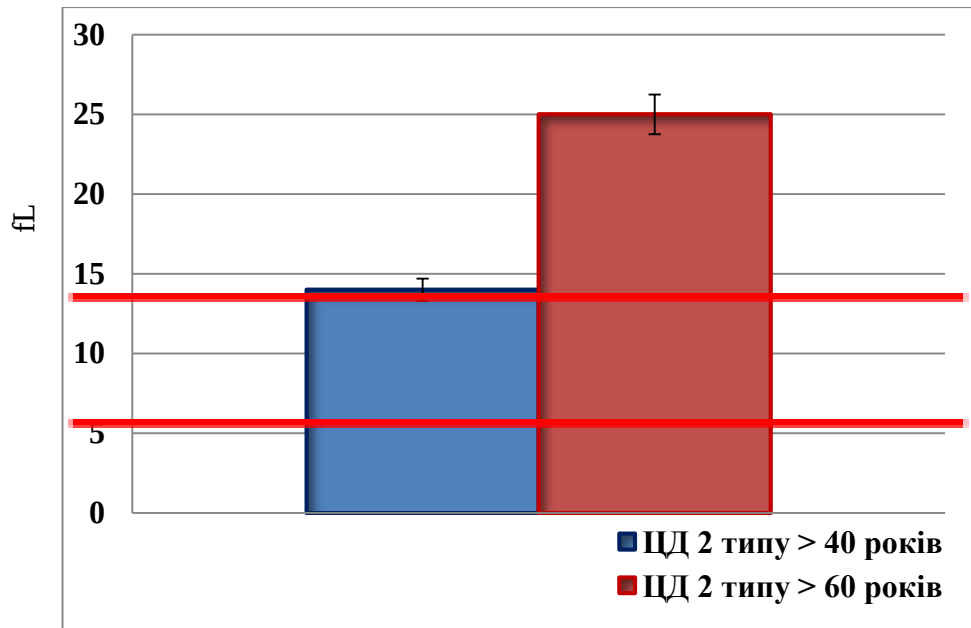


Рис. 3. Середній об'єм тромбоцитів (MPV) у хворих із цукровим діабетом 2 типу

Більшість дослідників вважають, що саме тромбоцити є основним фактором, що визначає схильність до тромбоутворення при ЦД 2-го типу. Пускову роль активації тромбоцитів відіграє контакт тромбогенних субстанцій, таких, як колаген та тромбін, з поверхнею рецептора тромбоцита, внаслідок чого запускається цілий каскад подій, серед яких важлива роль належить вивільненню арахідонової кислоти з мембранних фосфоліпідів та подальше утворення тромбоксану A₂, що має потужну вазоконстрикторну властивість. Результати експериментальних робіт свідчать про підвищену чутливість тромбоцитів хворих на цукровий діабет до різних індукторів агрегації, включаючи АДФ, тромбін та колаген.

Деякі дослідники припускають, що причина збільшення розміру тромбоцитів при діабеті пов'язана з осмотичним набряком, викликаним підвищеним рівнем глюкози в крові або підвищеним рівнем певних метаболітів глюкози [17].

Тромбоцити зазнають структурних змін і підвищеної експресії рецепторів, а також підвищеного утворення мікрочастинок, отриманих з тромбоцитів (видно при методах мікроскопії). Таким чином, тромбоцити є

чудовими, чутливими клітинними індикаторами супутнього виникнення та супутньої патології ЦД 2-го типу та ССЗ. Патологічні стани тромбоцитів разом з амілоїдним фібрином (огеном) при ЦД 2-го типу можуть бути підставою для того факту, що такі особи мають підвищений ризик серцево-судинних подій, пов'язаних із підвищеною захворюваністю та смертністю [45].

Середній обсяг тромбоцитів (MPV) свідчить про однаковість розмірів популяції тромбоцитів. Тому відзначається зв'язок розмірів тромбоцитів з їхньою функціональною активністю, вмістом у гранулах тромбоцитів біологічно активних речовин, схильністю клітин до адгезії, змінами об'єму тромбоцитів перед адгезією. Пацієнти з діабетом мають гіперреактивні тромбоцити з підвищеною адгезією, агрегацією та утворенням тромбину. Тому, можна сказати, що весь каскад зсідання крові при цукровому діабеті не працює [35].

Оскільки тромбоцити є природними джерелами факторів росту: фактор росту тромбоцитів (PDGF), фактор росту ендотелію судин (VEGF), інсуліноподібний фактор росту 1 (IGF 1) або трансформуючий фактор росту β (TGF β), вони відіграють важливу роль у запаленні, ангіогенезі, відновленні та регенерації тканин. Активація тромбоцитів опосередкована з деякими морфологічними змінами: активовані тромбоцити збільшуються в об'ємі, набуваючи сферичної форми і утворюючи псевдоподії.

Оскільки аномальний метаболічний стан цукрового діабету продовжує прогресувати, тромбоцити зазнають патологічних змін, які можуть модулювати первинний гемостаз. Гіперглікемія при діабеті індукує стан базальної активації та підвищує їх реактивність на стимулятори. По-перше, неферментативне глікування білків мембрани тромбоцитів призводить до посиленої експресії молекул адгезії. Тромбоцити пацієнтів із СД2 мають більшу експресію маркерів активації (CD31, CD49b, CD62P і CD63), поверхневих рецепторів, таких як глікопротеїн Ib і GPIIb/IIIa, і молекул поверхневої адгезії, включаючи ліганд CD40. CD62P, або P-селектин, відіграє важливу роль як у підвищенні активації тромбоцитів, так і у більшій адгезії

тромбоцитів. Це погіршує плинність клітинної мембрани та сприяє підвищенню реактивності. Крім того, виявлено, що підвищена осмолярність під час гіперглікемічних станів збільшує експресію GPVI, GPIIb/IIIa та P-селектину, що призводить до посиленого зв'язку лейкоцитів із приклеєними тромбоцитами через взаємодію P-селектину з P-селектиновим глікопротеїновим лігандом 1 (PSGL). -1). Крім того, протеїнкіназа C, важливий медіатор активації тромбоцитів, також посилюється у відповідь на гостру гіперглікемію, викликаючи посилену активацію тромбоцитів. Нарешті, глікація ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ) викликає структурні зміни в ЛПНЩ і змінює їх взаємодію з тромбоцитами, збільшуючи внутрішньоклітинну концентрацію кальцію в тромбоцитах [34].

При аналізі результатів тромбоцитарних індексів у груп хворих із цукровим діабетом 2 типу нами відмічено, що вікові особливості проявляють вплив на ширину розподілу тромбоцитів (RDW). Так, лише у пацієнтів із ЦД 2 типу віком 60–70 років даний показник перевищував значення референтних меж норми (рис. 4).

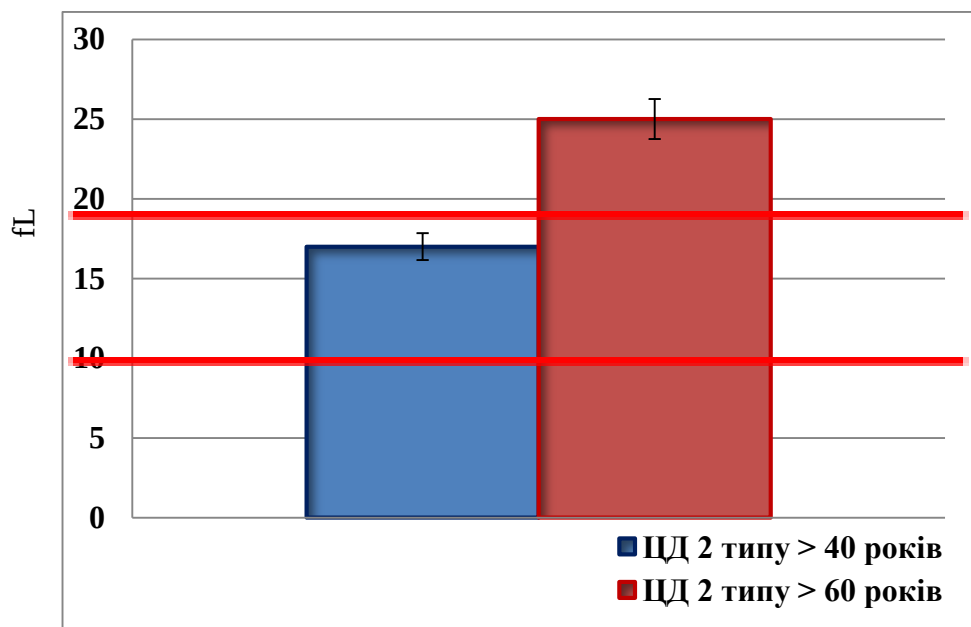


Рис. 4. Ширину розподілу тромбоцитів (RDW) у хворих із цукровим діабетом 2 типу

Підвищенні індексу ширини розподілу тромбоцитів реєструється тоді, коли кількість молодих тромбоцитарних пластинок переважає над концентрацією старих. Таких причин може бути декілька: по-перше, як компенсаторна відповідь на потребу організму в кількості тромбоцитів, коли виникає дефіцит вітамінів В₉, В₁₂ у кровоплин виходять незрілі мегалобласти, які замінюють клітини червоної крові; по-друге, може зростати ступінь синтезу мегакаріоцитів – попередників тромбоцитів; по-третє, інфекції різного генезу можуть змінювати відносну ширину розподілу тромбоцитів за об'ємом в сторону зростання: інтенсифікується дозрівання всіх клітинних елементів, зокрема й формених; по-четверте, це можуть бути аутоімунні захворювання, які провокують рефлекторний синтез додаткової кількості клітин [56].

Інсулін взаємодіє з тромбоцитами через рецептор інсуліну на їх клітинній поверхні. У фізіологічних станах інсулін пригнічує агоністи тромбоцитів, такі як колаген, і знижує агрегацію тромбоцитів. Крім того, інсулін викликає вивільнення активатора плазміногену разом із збільшенням експресії рецепторів простацикліну на поверхні тромбоцитів. Високі рівні рецепторів інсуліноподібного фактора росту-1 (IGF-1) також експресуються на поверхні тромбоцитів. Через відносно нижчу експресію рецепторів інсуліну порівняно з рецепторами IGF-1 субодиниці рецептора інсуліну гетеродимеризуються з IGF-1, утворюючи гібридні рецептори інсуліну/IGF-1, які зв'язують IGF-1 легше, ніж інсулін. Отже, IGF-1 викликає подальше фосфорилування субстрату рецептора інсуліну-1 і -2 (IRS-1/2), що притуплює реактивність тромбоцитів.

В осіб із ЦД 2 типу тромбоцити починають проявляти резистентність до інсуліну. Зменшення активації гібридних рецепторів інсуліну/IGF-1 призводить до зменшення кількості фосфорильованих молекул IRS-1 та IRS-2. Як наслідок, внутрішньоклітинна концентрація кальцію підвищується, що призводить до посилення агрегації тромбоцитів і, таким чином, реактивності. Крім того, резистентність до інсуліну також знижує чутливість тромбоцитів до оксиду азоту і простацикліну, молекул, які є антагоністами реактивності

тромбоцитів через їх вивільнення з ендотелію; отже, реактивність тромбоцитів додатково підвищується [15].

Таким чином, підвищення кількості тромбоцитів за рахунок зростанням показника їх середнього об'єму (MPV) та ширини розподілу (PDW) відбувається лише в хворих із цукровим діабетом 2 типу вікової категорії більше 60 років.

ЦД 2 типу часто супроводжується такими захворюваннями, як ожиріння та дисліпідемія, і разом вони сприяють посиленню системного запалення. Дослідження виявили підвищення концентрації запальних маркерів і молекул активації тромбоцитів у хворих на цукровий діабет 2 типу. Коли запальні клітини, такі як лейкоцити, взаємодіють з тромбоцитами через зв'язок PSGL-1-Р-селектин, вони посилюють адгезію, агрегацію та секрецію тромбоцитів за допомогою речовин, що вивільняються лейкоцитами, таких як O_2^- , фактор активації тромбоцитів, еластаза та катепсин G. Усі ці фактори разом викликають гіперреактивність тромбоцитів.

Ожиріння, незважаючи на його вплив на інсулінорезистентність, також впливає на реактивність тромбоцитів. Було виявлено, що пацієнти з ожирінням мають вищий середній об'єм тромбоцитів, що, у свою чергу, є предиктором підвищеного серцево-судинного ризику. Вони також мають вищі рівні лептину, який, як було раніше показано, збільшує агрегацію тромбоцитів. Нарешті, інтенсивніший окислювальний стрес і збільшення внутрішньоклітинної концентрації кальцію також підвищують реактивність тромбоцитів у тих, хто має високий ІМТ [2].

У людей з дисліпідемією активація тромбоцитів посилюється фосфоліпідами, які містяться в молекулах ЛПНЩ. Ці окислені фосфоліпіди підвищують ризик тромбозу через рецептор CD36. Крім того, стрес, викликаний підвищеним рівнем холестерину, також порушує регуляцію кровотворення, що збільшує кількість тромбоцитів. Рівень тригліцеридів зазвичай підвищується, і поряд з молекулами, які транспортують тригліцериди в крові, які називаються ліпопротеїнами дуже низької щільності, активація

тромбоцитів збільшується. І навпаки, більш низькі рівні ліпопротеїнів високої щільності мають непрямий вплив на підвищення реактивності тромбоцитів, викликаючи ендотеліальну дисфункцію [40].

Показано, що в пацієнтів з діабетом спостерігається підвищена концентрація внутрішньоклітинного кальцію, що підвищує реактивність тромбоцитів. Механізми, які, як припускають, відіграють певну роль, включають зниження кальцієвої АТФази саркоплазматичного ендоплазматичного ретикулуму (SERCA), зміни у функціонуванні кальцієвої АТФази та посилення дії натрієвого/кальцієвого антипортера, що призводить до припливу кальцію. Окислювальний стрес, що призводить до посилення сигналізації кальцію через утворення супероксиду та відновленого оксиду азоту, також бере участь у підвищенні рівня кальцію.

Раніше встановлено, що окрім впливу підвищеного окислювального стресу на кальцій, виробництво окислювачів, таких як перекис водню і супероксид, збільшує активацію тромбоцитів. Вони діють на білки за наявності гіперглікемії, виробляючи кінцеві продукти прогресуючого глікування, які сприяють атеросклерозу та агрегації тромбоцитів через їхню дію на рецептор кінцевих продуктів прогресуючого глікування і рецептори серотоніну відповідно. Окислення додатково порушує фізіологічний гемостаз через вплив на функцію ендотелію. Спостерігається зниження вироблення оксиду азоту та простагліцину, а разом зі зниженою чутливістю тромбоцитів до цих молекул у хворих на цукровий діабет, спостерігається синергетичне підвищення реактивності тромбоцитів.

Зрештою, підвищена реактивність тромбоцитів призводить до збільшення обороту тромбоцитів, що підтверджується виявленням більшої кількості молодших, сітчастих тромбоцитів у популяціях з діабетом. Звичайна антитромбоцитарна терапія часто є неадекватною щодо цих тромбоцитів, і це сприяє їх притупленій дії на цю когорту пацієнтів [3].

Окрім того, за даними коагулограми потрібно відмітити, що в хворих із цукровим діабетом 2 типу спостерігається підвищення рівня D-димеру (рис. 5) з дещо вищими показниками у пацієнтів віком більше 60 років.

В експериментальних роботах зазначається, що рівень D-димеру був значно вищим у пацієнтів-діабетиків, що свідчить про те, що вони частіше, ніж пацієнти без діабету, мають гіперкоагуляційний стан. Це пояснює те, що гіперглікемія може спричинити протромботичний статус, відповідно до двох різних шляхів: перший шлях – окислювальний стрес, який покращує вироблення тромбіну при гострій гіперглікемії, другий шлях – відсутність глікації. Крім того, ферментативний знижує функцію антитромбіну III і ко-фактор гепарину II. Таким чином, стійка гіперглікемія може сприяти запаленню та ендотеліальній дисфункції, що призводить до тромбоутворення. Підсумовуючи, гіперглікемія може призвести до утворення тромбів через дисбаланс між прокоагуляцією, антикоагулянтною активністю та фібринолізом [42].

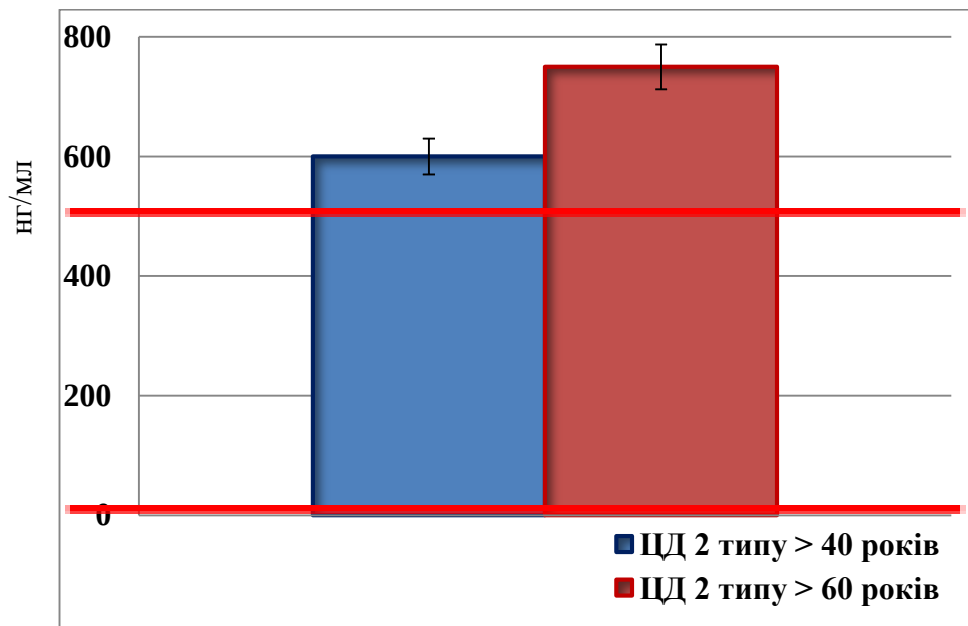


Рис. 5. Рівень D-димеру в крові хворих із цукровим діабетом 2 типу

Поточні дослідження виявили значний зв'язок між вихідною концентрацією D-димеру та ризиком серцево-судинних захворювань у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу. Цей зв'язок залишався значущим після

поправки на такі фактори, як артеріальна гіпертензія, куріння, індекс маси тіла, холестерол ЛПНЩ, тригліцериди, HbA1C, тривалість діабету, вік, антитромботичні засоби, протидіабетичні препарати та використання статинів, БРА/АПСЕР, β -блокаторів. Підвищена концертація D-димеру була пов'язана з серцево-судинними захворюваннями незалежно від традиційних факторів ризику та терапії, що свідчить про те, що вимірювання D-димеру слід розглядати так само інформативно, як і інші звичайні фактори ризику, принаймні в популяції діабетиків. Зв'язок між D-димером і серцево-судинними захворюваннями до кінця не вивчений. Розумно припустити, що раннє підвищення D-димеру може сприяти розвитку або тяжкості серцево-судинних захворювань. Вплив більш високого рівня D-димеру на події серцево-судинних захворювань відкриває можливість, що впливає з так званої «гіпотези загального ґрунту», яка визнає ряд загальних механізмів і факторів ризику ішемічних судинних порушень [42].

D-димер є циркулюючим пептидом, більш високі його рівні відображають більше системного утворення фібрину та тенденцію до збільшення тромбозу. D-димер може бути підвищений не тільки у хворих із гострим тромбозом, але й у людей похилого віку, а також при різних захворюваннях.

D-димер — це отриманий із плазміну розчинний продукт розпаду зшитого фібрину. Утворення D-димеру вимагає послідовної активності 3 ферментів: тромбіну, активованого фактора XIII (фактор XIIIa) і плазміну. Процес починається, коли тромбін, що утворюється коагуляційною системою, перетворює розчинний фібриноген на мономери фібрину. Кожна молекула фібриногену є симетричним димером, що складається з 3 пар 3 переплечених поліпептидних ланцюгів, які називаються α , β і γ , які відходять латерально від центрального ядра. Ланцюги утримуються разом за допомогою дисульфідних зв'язків, так що молекули фібриногену складаються з центрального домену E, з'єданого згорнутими ділянками з 2 периферичними доменами D (2). Щоб утворити мономери фібрину, тромбін відщеплює короткі пептиди від NH_2 -

кінців α - і β -ланцюгів, щоб відкрити «горбки» в Е-доменах. Ручки вставляються у вже існуючі «дірки» в D-доменах, так що мономері фібрину спонтанно полімеризуються кінець до кінця в напівшаховому порядку, перекриваючись, утворюючи дволанцюгові протофібрили фібрину. Окремі протофібрили асоціюються між собою, утворюючи фібрили, що складаються із сотень ниток. Оскільки мономері та протофібрили пов'язані нековалентно, мережа фібрину нестабільна. Міцність фібрину посилюється фактором XIIIa, трансглютаміназою, активованою тромбіном, який перехресно зв'язує D-домени сусідніх мономерів фібрину, а також α -ланцюги протилежних мономерів з утворенням D-димеру та α -полімерів відповідно. Таким чином, утворення зшитого фібрину, субстрату для утворення D-димеру, вимагає активації коагуляції з утворенням тромбіну, перетворенням фібриногену на мономері фібрину, полімеризацією мономерів фібрину з утворенням полімерів фібрину та зшиванням полімери фібрину фактором XIIIa.

D-димер утворюється, коли мережа зшитого фібрину зазнає опосередкованої плазміном деградації. Процес деградації починається, коли зв'язаний з фібрином плазміноген перетворюється на плазмін тканинним активатором плазміногену. Тоді як плазміноген циркулює в плазмі, тканинний активатор плазміногену вивільняється локально з ендотеліальних клітин у відповідь на пошкодження. Плазміноген і тканинний активатор плазміногену зв'язуються з поверхнею фібрину, утворюючи потрійний комплекс, який сприяє активації плазміногену. Таким чином, утворення плазміну локалізується на фібрині, забезпечуючи мінімальну деградацію циркулюючого фібриногену [38].

Нещодавні дослідження показують, що існує взаємозв'язок між рівнем D-димеру та MPV, що вказує на те, що у пацієнтів з цукровим діабетом 2 типу підвищена активація тромбоцитів може відображати підвищену фібринолітичну активність. Тим не менш, важливо зазначити, що вимірювання концентрації D-димеру демонструє обмежену специфічність, оскільки підвищення може бути виявлено у пацієнтів з такими станами, як

синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові, злоякісні новоутворення, вагітність, захворювання печінки, запальні процеси та хвороби серця, а також у пацієнтів, які перенесли хірургічне втручання або пережили травму. Крім того, підвищена концентрація D-димеру може бути хибно підвищеною у пацієнтів з вищою концентрацією тригліцеридів.

У зразках плазми пацієнтів із підвищеним ризиком серцево-судинних захворювань було продемонстровано утворення згустків з аномальною структурою та стабільністю. Важливою функцією під час коагуляції є опосередкована тромбоцитами консолідація згустків у процесі, відомому як скорочення (або ретракція) згустку. Цей процес включає зв'язування фібрину (огену) з рецептором інтегрину тромбоцитів α IIb B 3 і на нього впливають концентрації як тромбоцитів, так і фібрину (огену) [20].

Гемодинамічні та гемореологічні розлади пов'язані із відхиленнями у функціонуванні системи згортання крові, ключовим компонентом якої є фібриноген – глікопротеїн, що під дією тромбіну перетворюється на фібрин, основу згустку тромбу. Крім нормальної полімеризації утворені фібрин-мономери мають здатність взаємодіяти також з фібриногеном та продуктами його розпаду, утворюючи таким чином розчинні фібрин-мономерні комплекси (РФМК). Вони масово утворюються в плазмі крові в період активації процесу зсідання та надмірно зростають при змінах пулу фібриногену. Підвищення ж концентрації останнього в плазмі є характерним для розвитку гіпертонії та інсульту. Інші патологічні стани, такі як цукровий діабет, також мають вплив на регуляцію синтезу та функціонування фібриногену.

Фактично зростання рівня D-димеру в різновікових групах хворих із цукровим діабетом 2 типу можна напряму пов'язати з підвищенням концентрації фібриногену в сироватці крові (рис. 6).

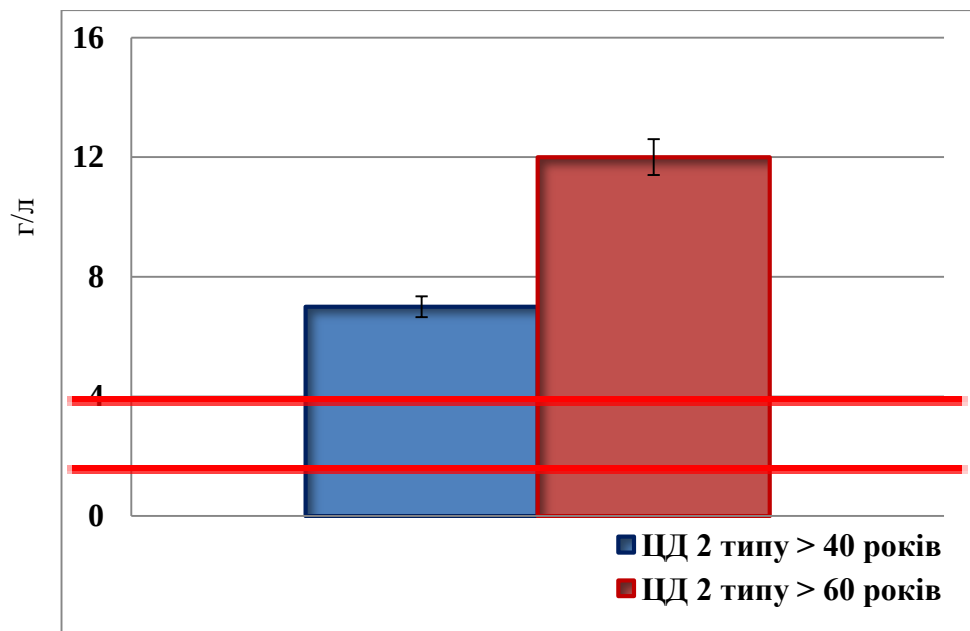


Рис. 6. Концентрація фібриногену в крові хворих із цукровим діабетом 2 типу

Фібриноген є основним чинником, що визначає в'язкість плазми крові, підвищення якої є одним з найвірогідніших попередників несприятливих серцево-судинних подій. Він задіяний не лише у процесі зсідання крові, а й бере участь у формуванні тромбоцитарних агрегатів. Взаємодія цього білку з клітинами опосередковується специфічними рецепторами на поверхні тромбоцитів. Підвищення концентрації фібриногену також є фактором активації ендотеліальних клітин [54].

Рівень фібриногену підвищений у хворих на цукровий діабет 2 типу і дозволяє передбачити розвиток цукрового діабету 2 типу у здорових осіб. У великих епідеміологічних дослідженнях повідомлялося про позитивну кореляцію між рівнем глюкози та фібриногену в плазмі крові. У 1990 році Van Wersch et al. спостерігали підвищення концентрації фібриногену у хворих на цукровий діабет, але не спостерігали суттєвої різниці в порівнянні з референтною групою. Аналогічно результатам Lippi et al. і Rotterdam et al. Asang і Jalil помітили, що у пацієнтів з цукровим діабетом, особливо у пацієнтів з тривалим цукровим діабетом з хронічними ускладненнями, спостерігалися значно вищі рівні фібриногену. Ендотеліальні аномалії

відіграють вирішальну роль у посиленій активації тромбоцитів і факторів згортання крові, що виникає у хворих на цукровий діабет. У таких пацієнтів маркери активації коагуляції підвищені, а аномалії згортання крові, мабуть, безпосередньо пов'язані з гіперглікемією, що охоплює всі стадії згортання крові. Хронічна гіперглікемія призводить до гіперглікозилювання декількох білків. Плазмові рівні багатьох факторів згортання крові, включаючи фібриноген, фактор VII, фактор VIII, фактор XI, фактор XII, калікреїн і фактор фон Віллебранда, підвищені при цукровому діабеті [41].

Рівень фібриногену в плазмі впливає на тромбоутворення, реологію крові, в'язкість крові та агрегацію тромбоцитів. Епідеміологічні дослідження виявили значний зв'язок між рівнями фібриногену та рівнями інсуліну. Маркери фібринолізу є ненормальними у людей з метаболічним синдромом, а фібринолітична дисфункція помітно посилюється у пацієнтів із цукровим діабетом та абдомінальним ожирінням. Крім того, хронічна гіперглікемія та глікація тканин помітно впливають на структуру фібрину, утворення згустків і резистентність до фібринолізу [41].

Чжоу та ін. виявили, що діабет може підвищувати рівень фібриногену (тобто фактора коагуляції I) в організмі. Фібриноген — це високомолекулярний глікопротеїн, який синтезується в печінці, і має найбільший вміст у крові з усіх факторів згортання крові. Він відіграє роль динамічного балансу в згортанні крові та фібринолізі, підтримує нормальну циркуляцію крові та відіграє роль у функціонуванні кровоносних судин, регулюючи коагуляцію, агрегацію тромбоцитів і функцію судинних ендотеліальних клітин. Висока концентрація фібриногену в плазмі викликає гіпертонус крові, збільшує її в'язкість і зменшує текучість, що легко призводить до тромбозу. Крім того, мікросудини стають ішемізованими та гіпоксичними через виникнення тромбозу. Порушується мікроциркуляція, погіршується стан периферичної нервової тканини. Крім того, підвищення рівня фібриногену призводить до пригнічення функції ендотеліальних клітин судин і підвищення проникності судин, а також до інших патологічних змін, які посилюють запальну відповідь і погіршують

стан. Крім того, повідомлялося, що фібрин, багатий лейкоцитами та тромбоцитами, концентрат тромбоцитів другого покоління, активно використовується для згортання крові та відновлення тканин завдяки своїм ангіогенним і ранозагоювальним властивостям, що також є важливим доказом фібриногену в процесі зсідання крові та відновлення тканин [15].

Структура фібринового згустку помітно змінюється у хворих на діабет і пов'язана з утворенням більш компактних фібринових мереж, стійких до фібринолізу. Механізми утворення компактних фібринових згустків включають якісні та кількісні зміни факторів згортання крові, включаючи молекулу фібриногену. Рівень фібриногену підвищується при цукровому діабеті 2 типу та інсулінорезистентних станах, тоді як білок може зазнавати посттрансляційних модифікацій, включаючи глікацію та окислення, які безпосередньо впливають на структуру згустку. Інші дослідження показали, що змінена генерація тромбіну при діабеті також може впливати на фібриновий згусток, утворюючи більш щільно упаковані нитки фібрину, які мають підвищену стійкість до лізису згустку [47].

Отже, цукровий діабет 2 типу незалежно від віку супроводжується зростанням рівня D-димеру та концентрації фібриногену в сироватці крові.

Таким чином, цукровий діабет пов'язаний із підвищеним потенціалом тромбоутворення через підвищену активацію тромбоцитів, а також утворення компактних фібринових мереж і порушення фібринолізу. Незважаючи на ці специфічні для діабету аномалії, потрібні подальші дослідження для точної класифікації ризику тромбозу в осіб з діабетом, які повинні мати можливість коригувати вік, стать, тривалість діабету та наявність супутніх захворювань.

ВИСНОВКИ

1. За умов перебігу цукрового діабету 2 типу максимально виражений тромбоцитоз зі збільшенням показника тромбокрити спостерігається у категорії хворих віком більше 60 років.
2. Підвищення кількості тромбоцитів за рахунок зростання показника їх середнього об'єму (MPV) та ширини розподілу (PDW) відбувається лише в хворих із цукровим діабетом 2 типу вікової категорії більше 60 років.
3. У сироватці крові хворих цукровим діабетом 2 типу спостерігається зростання рівня D-димеру та концентрації фібриногену незалежно від вікових особливостей пацієнтів.