

УДК 617.735-002-02:616.633.66+616.155.2]-076.5

Вплив системних та локальних чинників цукрового діабету II типу на функціональний стан тромбоцитів при діабетичній макулопатії у хворих з діабетичною ретинопатією

С. Ю. Могілевський¹, д-р мед. наук, професор; Ю. О. Панченко¹, канд. мед. наук;С. В. Зябіцев², д-р мед. наук, професор; Д. С. Зябіцев³, канд. мед. наук

¹ Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика;
Київ (Україна)

² Національний медичний університет імені О. О. Богомольця;
Київ (Україна)

³ Київський медичний університет;
Київ (Україна)

E-mail: sergey.mogilevskyy@gmail.com

Ключові слова:

цукровий діабет II типу, діабетична макулопатія, діабетичний макулярний набряк, непроліферативна і проліферативна діабетична ретинопатія, агрегація тромбоцитів

Вступ. До теперішнього часу відсутня інформація стосовно взаємовідносин системних – симпто-адреналової (САС) та ренін-ангіотензинової (РАС) систем та локальних – запалення і ремоделювання міжклітинного матриксу сітківки; активації пуринергічної системи ока механізмів при розвитку діабетичної макулопатії (ДМП) і діабетичного макулярного набряку (ДМН). **Мета дослідження** – з'ясувати вплив системних та локальних чинників цукрового діабету (ЦД) II типу на функціональний стан тромбоцитів (Тц) при ДМП та ДМН за умов важкої стадії непроліферативної (НПДР) і проліферативної діабетичної ретинопатії (ПДР).

Матеріал та методи. Дослідження включало 42 пацієнта (42 ока) із ЦД II типу, у яких виявлена ДМП при ПДР (31 хворий, 31 око) і при важкій стадії НПДР (11 пацієнтів, 11 очей). Оцінку агрегації Тц *in vitro* у відповідь на АДФ, адреналін, ангіотензин-2 (Анг-2), фактор активації тромбоцитів (ФАТ) і колаген проводили турбидиметричним методом на аналізаторі ChronoLog (США).

Результати. У всіх хворих виявлені загальні риси – підвищена реактивність Тц на Анг-2 і адреналін, ФАТ і колаген, тобто активація РАС і САС, запалення і ремоделювання міжклітинного матриксу являються неспецифічними механізмами патогенезу ДМП. Більша реактивність Тц до АДФ ($p=0,008$) при ПДР, ніж при важкій стадії НПДР, відбивала особливості патогенезу ПДР. Причиною розвитку ДМН у хворих з діабетичною макулопатією може бути вираженість дизрегуляції пуринергічної системи ока, активації РАС і запальної реакції, що проявлялося гіперреактивністю Тц до АДФ, Анг-2 і ФАТ, тоді як підвищена реактивність Тц до колагену була притаманна при відсутності ДМН.

Висновки. Аналіз функціонального стану Тц дозволив виявити механізми їх активації і з'ясувати провідні агоністи, які забезпечували участь Тц в прогресуванні діабетичної макулопатії та розвитку макулярного набряку у хворих з проліферативною діабетичною ретинопатією при ЦД II типу.

Вступ. У фізіологічних умовах внутрішній та зовнішній елементи геморетинального бар'єру (ГРБ) захищають сітківку, регулюючи транспорт іонів, протеїнів та води, і тим самим підтримують гомеостаз тканин ока [1]. При ДР акумуляція рідини відбувається у зовнішньому сітчастому та внутрішньому ядерному шарах сітківки, а також проявляється набряком клітин Мюллера [2]. Можливе локальне чи дифузне розширення екстрацелюлярного простору сітківки в області макули. В цьому контексті необхідно з'ясувати можливі причини зростання проникності ГРБ при проліферативній діабетичній ретинопатії (ПДР) у порівнянні з непроліферативною (НПДР), що призводить до набряку і пошкодженню нервових та гліальних клітин сітківки і може бути причиною раптового, або хронічного зменшення гостроти зору.

Як чинники цього процесу обговорюються кінцеві продукти глікування [3], фактор росту судинного ен-

дотелію (VEGF) [4] і ендотеліну [5], активація симпто-адреналової системи (САС) [6] і ренін-ангіотензинової системи (РАС) [7], запалення і пов'язане з ним ремоделювання міжклітинного матриксу [8]. Звертає на себе увагу, що не дивлячись на активне вивчення патогенезу ДМН, дотепер відсутні ефективні методи його лікування [9]. Однією з причин цієї проблеми є відсутність діагностичних методів, здатних в режимі експрес-аналізу оцінювати вираженість впливу патогенетичних чинників цукрового діабету (ЦД) на ГРБ, що дозволило б виявляти таргетні механізми альтерації і проводити адекватну фармакологічну корекцію.

До теперішнього часу відсутня інформація стосовно взаємовідносин системних (активація РАС і САС), та локальних (запалення і ремоделювання міжклітин-

ного матриксу сітківки; активація пуринергічної системи ока) механізмів розвитку діабетичної макулопатії (ДМП) і діабетичного макулярного набряку (ДМН) при ПДР. За таких умов неможливо встановити послідовність етапів прогресування патології ока і провідні механізми альтерації ГРБ.

Посередником між системними і локальними механізмами патогенезу ПДР є тромбоцити (Тц) і лейкоцити, які мають рецептори до агоністів, представлених в циркулюючій крові, і які здатні шляхом секреції біологічно активних речовин впливати на проникність ГРБ. Провідну роль відіграють Тц, які підвищують свою функціональну активність у відповідь на адреналін, ангіотензин-2 (Анг-2), фактор активації тромбоцитів (ФАТ), колаген і цитокіни [10]. Як результат, Тц можуть впливати на проникність ГРБ як прямим шляхом – секреція аденозинтрифосфата (АТФ) і аденозиндифосфата (АДФ), серотоніну, іонів Ca^{2+} , так і опосередкованим – завдяки формуванню тромбоцитарно-лейкоцитарних агрегатів під впливом ФАТ, який секретується нейтрофілами при розвитку запалення. Наслідком цих процесів є активація лейкоцитів, їх адгезія до ендотелію судин і зростання транспорту води і іонів [11].

Раніше нами вже були опубліковані дані щодо функціонального стану Тц у хворих на ЦД II типу [12, 13] та за наявності непроліферативної ДР [14].

Мета дослідження – з'ясування впливу системних та локальних чинників ЦД II типу на функціональний стан тромбоцитів при діабетичній макулопатії та розвитку діабетичного макулярного набряку за умов важкої стадії непроліферативної та проліферативної діабетичної ретинопатії.

Матеріали і методи

Дослідження включало 42 пацієнта (42 ока) із ЦД II типу, у яких за результатами клініко-інструментального обстеження та у відповідності із класифікацією ETDRS виявлена ДМП при наявності ПДР (31 хворий, 31 око) і важкої стадії НПДР (11 пацієнтів, 11 очей). ДМП встановлювали при наявності специфічних діабетичних змін сітківки в макулярній області: мікроаневризми, геморагії, інтратретинальних мікросудинних аномалій, вітреоретинальної судинної проліферації. Рівень тяжкості ДМП встановлювали відповідно до Міжнародної клінічної шкали Американської академії офтальмології (2002). ДМН встановлювали при збільшенні товщини сітківки більше значень нормативної бази даних по полях ETDRS програмного забезпечення спектрально-доменої ОКТ (зазначалося колірною шкалою, що підтверджувало збільшення товщини сітківки за межі норми – жовтим, $p < 0,05$, або червоним кольором, $p < 0,01$).

Всім хворим були виконані загальноприйняті офтальмологічні дослідження, що включали візіометрію, пневмотонометрію, периметрію, гоніоскопію, кераторефрактометрію. Офтальмоскопію виконували за допомогою асферичної лінзи Volk Super /Field (NC

USA) і контактної тридзеркальної лінзи Гольдмана. Спектрально-доменну оптичну когерентну томографію (ОКТ) проводили на приладі Optopoltechnology, SOCT, Copernicus REVO (протокол Retina3D, RetinaRaster); також використовували ОКТ в режимі «Ангіо» (протокол RetinaAngio, wide 6x6 mm). Дослідження очного дна проводили на фундус-камері з фотографуванням в 7 стандартних полях відповідно до модифікованої ETDRS системи клінічних ознак AirleHouse.

Тц виділяли шляхом центрифугування із цитратної периферичної крові пацієнтів і використовували для оцінки функціональної активності рецепторів. В дослідженні застосовували агоністи, що залучені у патогенез ЦД, зокрема: АДФ, який відбиває (а) рівень активації пуринових P2Y1- і P2Y12-рецепторів при дії екстрацелюлярних пуринів АТФ і АДФ; (б) секреторну активність Тц завдяки вивільненню ендогенних пуринів із щільних гранул; (в) можливості аутокринної стимуляції пуринових рецепторів Тц; адреналін – гуморальний фактор, рівень якого зростає за умов стрес-реакції внаслідок активації САС; Анг-2-гуморальний фактор, рівень якого зростає внаслідок активації РАС; ФАТ – паракринний медіатор, що забезпечує стимуляцію Тц, а також взаємодію лейкоцитів і Тц у реалізації запалення; колаген, який відбиває результат ремоделювання міжклітинного матриксу, наслідком чого є зростання концентрації розчиненого колагену в крові та/чи експресії колагену базальної мембрани судин. Агоністи (Sigma, США) використовували в ефективній концентрації (EC50), яка викликала агрегацію тромбоцитів (АТц) на рівні $50 \pm 5\%$. Для адреналіну вона становила – $2,5 \pm 0,1$ мкМ, колагену – $1,0 \pm 0,03$ мг/мл, Анг-2 – $1,0 \pm 0,06$ мкМ, ФАТ – $75,0 \pm 2,6$ мкМ і АДФ – $2,5 \pm 0,05$ мкМ. Оцінку АТц проводили турбидиметричним методом на аналізаторі ChronoLog (США).

У всіх обстежених отримано інформовану згоду пацієнта на участь в дослідженні. При проведенні аналізу використовували статистичний пакет Medcalc. Точкова оцінка величин, що підлягали аналізу, проводилася шляхом розрахунку середнього значення (\bar{X}) та стандартного відхилення ($\pm SD$), або її медіани (Me) та інтерквартильного розмаху (QI–QIII). При аналізі міжгрупових розбіжностей у випадку двох груп застосовували критерій Стьюдента (у випадку нормального закону розподілу та кількісних характеристик), критерій Вілкоксона (у випадку відмінності закону розподілу від нормального та кількісних характеристик), метод кутового перетворення Фішера (у випадку порівняння частоти якісних ознак). У всіх випадках відмінність вважалася статистично значущою при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Загальний аналіз реактивності Тц у хворих із ДМП при ПДР виявив гіперреактивність Тц до всіх п'яти агоністів: колагену, адреналіну, Анг-2, АДФ і ФАТ (табл. 1).

Таблиця 1. Розбіжності індукованої АТц (%) у хворих з діабетичною макулопатією при важкій стадії НПДР і ПДР

Індуктор АТц	Важка стадія НПДР, n=11 (IV стадія стосовно ETRS)		ПДР, n=31 (V стадія стосовно ETRS)	
	Me	Q ₁ ÷ Q _{III}	Me	Q ₁ ÷ Q _{III}
Анг-2 (1,0 мкМ)	70,0	65,0-79,0	73,0	70,0-80,0
АДФ (2,5 мкМ)	70,0	69,0-73,0	75,0 p _{НПДР} =0,008	71,0-82,0
Колаген (1,0 мг/мл)	65,0	60,0-75,0	70,0 p _{АДФ} =0,010	59,0-90,0
ФАТ (75,0 мкМ)	63,0	60,0-67,0	62,0 p _{колаген} =0,034	57,0-71,0
Адреналін (2,5 мкМ)	60,0	60,0-62,0	57,0 p _{НПДР} =0,018 p _{ФАТ} =0,002	55,0-59,0

Примітки: p_{НПДР} – вірогідність розбіжностей показників індукованої АТц при ПДР стосовно таких при важкій стадії НПДР; для ПДР – p_{агоніст} – вірогідність розбіжностей АТц стосовно ефекту попереднього агоністу

У порівнянні з ДМП при важкій стадії НПДР виявлене зростання реактивності Тц у відповідь на стимуляцію АДФ (на 7,1%; p=0,008), та зниження такої до адреналіну (на 5,0%; p<0,05). Реакція Тц на Анг-2, колаген і ФАТ відповідала діапазону гіперреактивності (57-90%) і була порівняною в обох групах.

Таким чином, у хворих з ДМП при важкій стадії НПДР та ПДР виявлені загальні риси – гіперреактивність Тц на Анг-2 і адреналін, ФАТ і колаген, а, отже – активація PАС і САС, запалення і ремоделювання міжклітинного матриксу сітківки є стереотипним механізмом патогенезу ДМП. До особливостей реактивності Тц хворих з ДМП при ПДР можна віднести

зростаючий вплив АДФ (p=0,008). Даний феномен відбувався підвищення стимуляції пуринових рецепторів Тц, яка може розглядатися як фактор ризику прогресування ДМП від важкої стадії НПДР до ПДР.

У пацієнтів з ДМП при ПДР провідними факторами індукції АТц залишалися Анг-2 і АДФ. Стосовно реакції Тц на АДФ, ефект інших агоністів був менше – колагену на 6,7%, ФАТ на 17,3% і адреналіну на 24,0% (p<0,05 для всіх порівнянь). Якщо співставити активність рецепторів стосовно один одного, то кластер рецепторів мав наступний вигляд: активність АТ1-рецептору = активності пуринових рецепторів > активності GРVІ-рецептору > активності ФАТ-рецептору > активності α2-адренорецептору.

Чи відрізнялася функціональна активність Тц при ДМП за умов розвитку ДМН? В даному контексті спочатку пацієнтів із НПДР перерозподілили на дві підгрупи: А – 6 (54,6%) пацієнтів, у яких був виявлений ДМН; В – 5 (45,4%) пацієнтів, у яких признаки ДМН були відсутніми (табл. 2).

Проведене дослідження показало, що в підгрупі А зберігалася гіперреактивність Тц (АТц>55%) до всіх агоністів. У всіх цих пацієнтів мала місце гіперреактивність АТ1-рецепторів в діапазоні 70-81%.

Встановлено, що реакція Тц на Анг-2 перевищувала реакцію на АДФ на 9,2% (p=0,009), ФАТ – на 17,3% (p<0,001), колагену – на 26,6% (p<0,001), адреналіну – на 27% (p<0,001). У хворих підгрупи В при відсутності ДМН виявлена гіперреактивність GРVІ-рецепторів до колагену, але в діапазоні 72-80% (див. табл. 2). Реакція Тц на колаген перевищувала відповідь на АДФ на 7,7% (p=0,015), Анг-2 – на 14,5% (p<0,001), ФАТ – на 24,2% (p<0,001), адреналіну – на 25,1% (p<0,001).

Звертало на себе увагу, що у хворих з ДМП при важкій стадії НПДР за умов наявності чи відсутності ДМН відрізнялася реакція Тц на колаген, Анг-2 і ФАТ. Так, при наявності ДМН реакція Тц на Анг-2 була вище, ніж у пацієнтів при відсутності ДМН на 16,6% (p<0,001) і ФАТ – на 7,9% (p<0,01), тоді як при відсутності ДМН реактивність Тц до колагену перевищувала таку на 24,3% (p<0,001) стосовно групи хворих з ДМН.

Таблиця 2. Розбіжності індукованої АТц (%) у хворих з ДМП при важкій стадії НПДР за наявності (підгрупа А) або відсутності ДМН (підгрупа В)

Індуктор АТц	Підгрупа А, n=6		Підгрупа В, n=5	
	Середнє значення, $\bar{X} \pm SD$	Розмах (Min – Max)	Середнє значення, $\bar{X} \pm SD$	Розмах (Min – Max)
Колаген (1,0 мг/мл)	61,0±1,6***	55,0-65,0	75,8±1,4	72,0-80,0
АДФ (2,5 мкМ)	70,7±1,2	66,0-74,0	70,4±1,0	68,0-74,0
Анг-2 (1,0 мкМ)	77,2±1,6***	70,0-81,0	66,2±1,1	64,0-70,0
ФАТ (75,0 мкМ)	65,8±0,8**	63,0-68,0	61,0±0,8	59,0-63,0
Адреналін (2,5 мкМ)	60,8±0,6	59,0-63,0	60,6±0,6	59,0-62,0

Примітки: ** – вірогідність розбіжностей в підгрупах на рівні p<0,01; *** – на рівні p<0,001

Реакція Тц до адреналіну і АДФ статистично значуще не відрізнялася. Отже, порівняння функціональної активності рецепторів Тц в підгрупах А і В свідчило, що Анг-2 і ФАТ відтворювали гіперреактивність Тц і могли бути причиною розвитку ДМН у хворих з ДМП при важкій стадії НПДР.

В подальшому, аналогічним чином перерозподілили на дві підгрупи пацієнтів з ПДР: С – 14 (45,2%) хворих, у яких був виявлений ДМН і D – 17 (54,8%), у яких признаки ДМН були відсутніми (табл. 3).

Проведене дослідження показало, що в підгрупі С мала місце гіперреактивність Тц до всіх агоністів. Провідним фактором індукції АТц був АДФ; активність пуринових рецепторів до даного агоністу знаходилась в діапазоні 78-92%. Реакція Тц на АДФ перевищувала реакцію на Анг-2 на 4,7% ($p=0,011$), ФАТ – на 20,2% ($p<0,001$), колагену – на 45,1% ($p<0,001$) і адреналіну – на 47,9% ($p<0,001$). Якщо співставити активність рецепторів стосовно один одного, то кластер рецепторів у цьому випадку мав наступний вигляд: активність пуринових рецепторів > активності АТ1-рецептору > активності ФАТ-рецептору > активності GPVI-рецептору = активності $\alpha 2$ -адренорецептору. Наявність зв'язку високого ступеня вираженості між Анг-2 індукованою АТц, та АТц при дії ФАТ ($r=0,693$; $p=0,006$) свідчила, що взаємодії РАС і запалення були значущими для патогенезу ДМН у хворих із ДМП при ПДР.

У хворих підгрупи D також виявлена гіперреактивність GPVI-рецепторів до колагену в діапазоні 69-85%. Реакція Тц на колаген перевищувала відповідь на АДФ на 10,4% ($p<0,001$), Анг-2 – на 12,3% ($p<0,001$), ФАТ – на 33,4% ($p<0,001$), адреналіну – на 35,3% ($p<0,001$). Отже, кластер активності рецепторів Тц у даного контингенту хворих мав інший вигляд: активність GPVI-рецептору > активності пуринових рецепторів = активності АТ1-рецептору > активності ФАТ-рецептору = активності $\alpha 2$ -адренорецептору. У хворих з ДМП при ПДР за наявністю і відсутністю ДМН відрізнялася ($p<0,05$) реакція Тц на колаген, АДФ, Анг-2 і ФАТ.

Таким чином, за відсутністю ДМН без залежності від стадії ДР, ймовірно, мало місце ремоделювання

міжклітинного матриксу (підвищення експресії колагену та сульфатованих глікозаминогліканів [10]), що попереджало накопичення інтерстиціальної рідини та утворення ДМН).

При наявності ДМН реакція Тц на АДФ перевищувала таку в групі пацієнтів без ДМН на 19,2% ($p<0,001$), Анг-2 – на 15,9% ($p<0,001$) і ФАТ – на 19,9% ($p<0,001$), тоді як при відсутності ДМН реактивність Тц до колагену перевищувала таку на 34,4% ($p<0,001$) стосовно підгрупи хворих без ДМН. Реакція Тц до адреналіну і АДФ статистично значуще не відрізнялася. Отже, співставлення функціональної активності рецепторів в підгрупах С і D дозволило припустити, що АДФ, Анг-2 і ФАТ відтворювали гіперреактивність Тц і могли бути індикаторами розвитку ДМН. В той же час, зростання реактивності пуринових рецепторів Тц до АДФ відбивало особливості патогенезу ДМП при ПДР.

Отже, в дослідженні Тц *in vitro* підтверджена участь як системних, так і локальних патогенетичних механізмів, асоційованих з ЦД II типу, в розвитку ДМП і ДМН. Зростання проагрегантного стану Тц може ініціювати тромбози і геморагії судин сітківки. Відтак, функціональна активність $\alpha 2$ -адрено- і АТ1-рецепторів, ФАТ- і GPVI-рецепторів Тц може бути інформативним індикатором для прогнозування ризику ДМП при ПДР.

Значно менше звісно про діагностичну цінність тесту зі стимуляцією Тц АДФ. Як показали результати проведеного дослідження, зростання функціональної активності Тц під впливом агоністу АДФ є універсальним механізмом, який приймає участь в патогенезі як ДМП, так і ДМН. В основі АДФ-індукованої агрегації Тц лежить секреція АТФ і АДФ, які не тільки стимулюють пуринові рецептори самих Тц (феномен ампліфікації стимулюючого сигналу, відомий як аутокринна стимуляція Тц), але й впливають на інші клітини, які мають відповідні рецептори: P2X-, P2Y1- і P2Y12- [10]. Такими клітинами в сітківці ока можуть бути ендотелії і перичити судин ГРБ, пігментний епітелій і нервові клітини.

Таблиця 3. Розбіжності індукованої АТц (%) у хворих з ДМП при ПДР за наявністю (підгрупа С) та відсутності ДМН (підгрупа D)

Індуктор АТц	Підгрупа С, n=14		Підгрупа D, n=17	
	Середнє значення АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Розмах (Min – Max)	Середнє значення АТц (%), $\bar{X} \pm SD$	Розмах (Min – Max)
АДФ (2,5 мкМ)	84,9 \pm 0,9	78,0-92,0	71,2 \pm 0,5***	58,0-79,0
Анг-2 (1,0 мкМ)	81,1 \pm 0,8	77,0-86,0	70,0 \pm 0,7***	63,0-74,0
ФАТ (75,0 мкМ)	70,6 \pm 1,5	56,0-78,0	58,9 \pm 1,1***	54,0-70,0
Колаген (1,0 мг/мл)	58,5 \pm 0,6	54,0-62,0	78,6 \pm 1,3***	69,0-85,0
Адреналін (2,5 мкМ)	57,4 \pm 0,9	50,0-65,0	58,1 \pm 1,9	50,0-86,0

Примітки: *** – вірогідність розбіжностей в підгрупах на рівні $p<0,001$

Встановлено, що при ДР значно зростає концентрація АТФ, АДФ та АМФ в сітківці ока [15]. Ферменти: екто-5'-нуклеотидаза / CD73, аденілаткіназа-1 і нуклеозид-дифосфаткіназа присутні в структурах ока для підтримки балансу між прозапальним АТФ, та проти-запальним аденозином. Імуногістохімічне забарвлення виявило селективну експресію екто-5'-нуклеотидази / CD73 на фоторецепторних клітинах сітківки. Пацієнти з ПДР мали більш високу активність аденілаткінази та концентрацію АТФ, у порівнянні з НІДР [16]. Наявність позитивної кореляції між інтравітреальною активністю аденілаткінази і концентраціями АТФ, АДФ, з одного боку та ангіогенами (ангіопоетини-1 і -2), профібротичними (TGFβ1) та протеолітичними (матрична металопротеїназа-9) факторами, з другого, відбиває зв'язок пуринергічної сигналізації в клітинах ока з васкулогенезом і ремоделюванням міжклітинного матриксу. Клітини Мюллера сітківки ока вивільняють АТФ, який стимулює P2X7-рецептори ендотеліальних клітин і викликає апоптоз останніх [17]. Дизрегуляція Ca²⁺ сигналізації при підвищеній активації P2X7-рецепторів до АТФ є критичним етапом індукції апоптозу нейронів та клітин стінки судин при діабеті [18]. Гіперактивація P2X7-рецептору відіграє негативну роль у загибелі фоторецепторних клітин, а також у віковій дисфункції та дегенерації пігментного епітелію сітківки. Гліоз, який індукується та / або модулюється пуринергічною сигналізацією, супроводжується порушенням гомеостатичної підтримки нейронів. З іншого боку, зміни метаболізму глії призводять до розпаду АТФ і підвищенню рівня аденозину, який може бути нейропротектором в сітківці. Фармакологічна модуляція пуринових рецепторів, наприклад, інгібування P2X- і активація рецепторів аденозину, може мати клінічне значення для профілактики апоптозу фоторецепторів, нейронів та перичитів клітин при діабетичній ретинопатії. При ЦД порушується аденозинергічна система, яка розглядається як важливий модулятор нейротрансмісії та запальної реакції через сигналізацію чотирьох типів рецепторів аденозину (A1R, A2AR, A2BR і A3R) [19]. В експериментах доведено, що селективні агоністи A3-рецепторів запобігають апоптозу нейронів сітківки [20].

Той факт, що у хворих з ПДР виявлена гіперреактивність пуринових P2Y1- і P2Y12-рецепторів на АДФ, свідчив про вираженість аутокринної стимуляції Тц і ефективне функціонування внутрішньоклітинних сигнальних шляхів. У хворих з ДМП при ПДР за наявністю ДМН визначалася більш виражена реактивність Тц на АДФ, ніж у хворих без ДМН, що могло свідчити про зростаючу дизрегуляцію пуринергічної сигналізації в структурах ока. Наслідком цього можуть бути: (а) порушення нейротрансмісії і розвиток запальної реакції в сітківці ока; гліоз; апоптоз фоторецепторів та клітин стінки судин [21]; (б) підвищення екстрацелюлярних концентрацій АТФ і АДФ, що викликає зростання проникності структур ГРБ (при активації пуринових

рецепторів на поверхні ендотеліальних клітин і перичитів стінки капілярів, пігментного епітелію) з подальшою стимуляцією Тц; (в) прекодиціонування Тц, що супроводжується локальним тромбозом і геморагіями в судинах сітківки.

Подальше дослідження пуринергічної сигналізації в клітинах ока відкриває можливості для розробки нових терапевтичних підходів, спрямованих на профілактику та лікування ДМП та ДМН при проліферативній діабетичній ретинопатії.

Висновки

1. Дослідження тромбоцитів *in vitro* дозволило одночасно провести аналіз функціональної активності декількох рецепторів і встановити кластер рецепторів, який відбиває вплив системних і локальних патогенетичних чинників ЦД II типу на клітини-мішені. Такий методичний підхід дозволив співставити механізми активації Тц і з'ясувати провідні агоністи, які забезпечували участь Тц в прогресуванні діабетичної макулопатії від важкої стадії непроліферативної до проліферативної діабетичної ретинопатії і розвитку діабетичного макулярного набряку.

2. Аналіз функціональної активності рецепторів Тц у хворих з діабетичним макулярним набряком при важкій стадії непроліферативної і проліферативній діабетичній ретинопатії, а також у хворих із проліферативною діабетичною ретинопатією при наявності і відсутності діабетичного макулярного набряку свідчив, що активація ренін-ангіотензинової і симпато-адреналової систем, розвиток запалення і ремоделювання міжклітинного матриксу сітківки були стереотипними механізмами патогенезу діабетичного макулярного набряку, тоді як зростаючий вплив АДФ на тромбоцити відбивав його прогресування. Гіперреактивність тромбоцитів до АДФ, ангіотензину-2 і ФАТ можуть бути індикаторами розвитку діабетичного макулярного набряку, тоді як гіперреактивність тромбоцитів до колагену була притаманною для відсутності діабетичного макулярного набряку.

Література

1. **Willermain F.** Potential interplay between hyperosmolarity and inflammation on etinal pigmented epithelium in pathogenesis of diabetic retinopathy / F. Willermain, L. Scifo, C. Weber, L. Caspers, J. Perret, C. Delporte // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. Vol. 19, N 4. – P. E1056.
2. **Scholl S.** General pathophysiology of macular edema / S. Scholl, A. Augustin, A. Loewenstein, S. Rizzo, B. Kupperman // *Eur. J. Ophthalmol.* – 2011. – Vol. 21, N 6. – P. S.10-19.
3. **Xu J.** Involvement of advanced glycation end products in the pathogenesis of diabetic retinopathy / J. Xu, L. J. Chen, J. Yu, H. J. Wang, F. Zhang, Q. Liu, J. Wu // *Cell. Physiol. Biochem.* – 2018. – Vol. 48, N 2. – P. 705-717.
4. **Urias E. A.** Novel therapeutic targets in diabetic macular edema. Beyond VEGF / E. A. Urias, G. A. Urias, F. Monickaraj, P. McGuire, A. Das // *Vision Res.* – 2017. – Vol. 139. – P. 221-227.

5. **Sorrentino F. S.** Diabetic retinopathy and endothelin system: microangiopathy versus endothelial dysfunction / F. S. Sorrentino, S. Matteini, C. Bonifazzi, A. Sebastiani, F. Parmegiani // *Eye (Lond.)*. – 2018. – Vol. 32, N 7. – P. 1157-1163.
6. **Jiang Y.** Beta-adrenergic receptor agonist decreases VEGF levels through altered eNOS and PKC signaling in diabetic retina / Y. Jiang, Q. Zhang, J. J. Steinle // *Growth Factors*. – 2015. – Vol. 33, N 3. – P. 192-199.
7. **Kim J. H.** Blockade of angiotensin II attenuates VEGF-mediated blood-retinal barrier breakdown in diabetic retinopathy / J. H. Kim, J. H. Kim, Y. S. Yu, C. S. Cho, K. W. Kim // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* – 2009. – Vol. 29, N 3. – P. 621-628.
8. **Dagher Z.** The increased transforming growth factor- β signaling induced by diabetes protects retinal vessels / Z. Dagher, C. Gerhardinger, J. Vaz, M. Goodridge, F. Tecilazich, M. Lorenzi // *Am. J. Pathol.* – 2017. – Vol. 187, N 3. – P. 627-638.
9. **Somilleda-Ventura S.A.** Association between visual improvement after photocoagulation and the use of angiotensin-converting enzyme inhibitors in diabetic macular oedema / S. A. Somilleda-Ventura, Y. Z. García-Rubio, D. M. Razo Blanco-Hernández, V. Lima-Gómez // *Cir. Cir.* – 2016. – Vol. 84, N 4. – P. 269-274.
10. **Баринев Э. Ф.** / Тромбоциты / Э. Ф. Баринев, О. Н. Сулаева, А. М. Гнилорыбов // *Донецк*, 2012. – 324 с.
11. **Ed Rainger G.** The role of platelets in the recruitment of leukocytes during vascular disease / G. Ed Rainger, M. Chimen, M. J. Harrison, C. M. Yates, P. Harrison, S. P. Watson, M. Lordkipanidzé, G. B. Nash // *Platelets* – 2015. – Vol. 26, N 6. – P. 507-520.
12. **Hudz A. S.** Functional status of platelets in type 2 diabetes patients showing no diabetic fundus changes / A. S. Hudz, S. Iu. Mogilevskyy, M. L. Maksymtsiv // *J. ophthalmol. (Ukraine)*. – 2017. – N 1. – P. 20-24.
13. **Гудзь А. С.** Функціональний стан тромбоцитів і порушення мікроциркуляції сітківки у пацієнтів, хворих на цукровий діабет 2-го типу / А. С. Гудзь, М. Л. Максимців // *Архів офтальмології України*. – 2017. – Вип. 2, № 8. – С. 27-32.
14. **Гудзь А. С.** Протромбогенний фенотип тромбоцитів у пацієнтів із непроліферативною діабетичною ретинопатією / А. С. Гудзь, М. Л. Максимців, С. В. Зяблицев, С. Ю. Могілевський // *Міжнародний ендокринологічний журнал*. – 2018. – Вип. 14, № 2: doi: <http://dx.doi.org/10.22141/2224-0721.14.2.2018.130558>.
15. **Loukovaara S.** Increased intravitreal adenosine 5'-triphosphate, adenosine 5'-diphosphate and adenosine 5'-monophosphate levels in patients with proliferative diabetic retinopathy / S. Loukovaara, S. Sahanne, S. Jalkanen, G. G. Yegutkin // *Acta Ophthalmol.* – 2015. – Vol. 93, N 1. – P. 67-73.
16. **Loukovaara S.** Deregulation of ocular nucleotide homeostasis in patients with diabetic retinopathy / S. Loukovaara, J. Sandholm, K. Aalto, J. Liukkonen, S. Jalkanen, G. G. Yegutkin // *J. Mol. Med. (Berl.)*. – 2017. – Vol. 95, N 2. – P. 193-204.
17. **Portillo J. C.** Ligation of cd40 in human müller cells induces P2X7 receptor-dependent death of retinal endothelial cells / J. C. Portillo, Y. Lopez Corcino, G. R. Dubyak, T. S. Kern, S. Matsuyama, C. S. Subauste // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2016. – Vol. 57, N 14. – P. 6278-6286.
18. **Reichenbach A.** Purinergic signaling in retinal degeneration and regeneration / A. Reichenbach, A. Bringmann // *Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 104. – P. 194-211.
19. **Vindeirinho J.** The adenosinergic system in diabetic retinopathy / J. Vindeirinho, A. R. Santiago, C. Cavadas, A. F. Ambrósio, P. F. Santos // *J. Diabetes Res.* – 2016. – Vol. 2016, Article ID 4270301. – 8 p. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4270301>
20. **Galvao J.** Adenosine A3 receptor activation is neuroprotective against retinal neurodegeneration / J. Galvao, F. Elvas, T. Martins, M. F. Cordeiro, A. F. Ambrósio, A. R. Santiago // *Exp. Eye Res.* – 2015. – Vol. 140. – P. 65-74.
21. **Santilli F.** Increased circulating resistin is associated with insulin resistance, oxidative stress and platelet activation in type 2 diabetes mellitus / F. Santilli, R. Liani, P. Di Fulvio, G. Formoso, P. Simeone, R. Tripaldi, T. Ueland, P. Aukrust, G. Davi // *Thromb. Haemost.* – 2016. – Vol. 116, N 6. – P. 1089-1099.

Поступила 10.09.2018

Влияние системных и локальных факторов сахарного диабета II типа на функциональное состояние тромбоцитов при диабетической макулопатии у больных с диабетической ретинопатией

Могилевский С. Ю., Панченко Ю. А., Зяблицев С. В., Зяблицев Д. С.

Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика; Киев (Украина)

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца; Киев (Украина)

Киевский медицинский университет; Киев (Украина)

Введение. До настоящего времени отсутствуют данные о взаимоотношениях системных (симпто-адреналовой (САС) и ренин-ангиотензиновой (РАС) систем) и локальных (воспаление и ремоделирование межклеточного матрикса сетчатки, активация пуринергических систем глаза) механизмов при развитии диабетической макулопатии (ДМП) и диабетического макулярного отека (ДМО).

Цель – установить влияние системных и локальных факторов сахарного диабета (СД) II типа на функциональное состояние тромбоцитов (Тц) при ДМП и ДМН в условиях тяжелой стадии непролиферативной и пролиферативной диабетической ретинопатии (ПДР).

Материал и методы. Исследование включало 42 пациента (42 глаза) с СД 2 типа, у которых была об-

наружена ДМП при ПДР (31 больной, 31 глаз) и при тяжелой стадии непролиферативной диабетической ретинопатии (НПДР, 11 пациентов, 11 глаз). Оценку агрегации Тц *in vitro* в ответ на АДФ, адреналин, Анг-2, ФАТ и коллаген проводили турбидиметрическим методом на анализаторе ChronoLog (США).

Результаты. У всех больных были выявлены общие черты – гиперреактивность Тц на Анг-2 и адреналин, ФАТ и коллаген; то есть активация РАС и САС, воспаление и ремоделирование межклеточного матрикса были неспецифическими механизмами патогенеза ДМП. Большая реактивность Тц на АДФ ($p=0,008$)

при ПДР, по сравнению с тяжелой стадией НПДР, отражала особенности патогенеза ДМП. Причиной развития ДМО у больных с ДМП могла быть выраженная дисрегуляция пуринергической системы глаза, активация РАС и воспалительной реакции, что проявлялось гиперреактивностью Тц на АДФ, Анг-2 и ФАТ, тогда как гиперреактивность Тц относительно коллагена была характерной для отсутствия ДМО.

Выводы. Исследование Тц *in vitro* позволило выявить механизмы их активации и ведущие агонисты, которые обеспечивали участие Тц в прогрессировании ДМП и развитии ДМО у больных с ПДР при СД II типа.

Ключевые слова: сахарный диабет II типа, диабетическая макулопатия, диабетический макулярный отек, непролиферативная и пролиферативная диабетическая ретинопатия, агрегация тромбоцитов