

УДК: 616.379-008.65-02: (616-092.19+616.155.3-018.5)

**ВПЛИВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ГРАНУЛОЦИТІВ****Бучко О.Ю., Кияк Ю.Г.***Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, кафедра сімейної медицини, м. Львів*

**РЕЗЮМЕ:** метою нашої роботи було проаналізувати вплив цукрового діабету 2 типу на гранулоцити венозної крові у 38 хворих із супутньою ішемічною хворобою серця та у 9 пацієнтів, які не страждають на діабет, з використанням електронної мікроскопії. Аналіз ультраструктури гранулоцитів виявив, що наявність діабету може бути причиною дегенеративних змін гранулоцитів. Зміни в структурі гранулоцитів були в основному при декомпенсації цукрового діабету 2 типу, гіперглікемії і значно вищій тривалості захворювання більше ніж 5-10 років.

**Ключові слова:** цукровий діабет 2 типу, ішемічна хвороба серця, ультраструктура, гранулоцити

**Вступ.** Цукровий діабет 2 типу (ЦД 2 типу) – клінічно гетерогенна та етіологічно мультифакторна патологія. Незалежно від типу ЦД 2 типу у хворих у різні строки від початку захворювання формуються тканинні, органні та судинні порушення, які є основною причиною смерті хворих. Більшість хворих на ЦД 2 типу мають ураження серцево-судинної системи, що проявляються ішемічною хворобою серця (ІХС), зокрема стенокардією та інфарктом міокарда. ІХС у хворих із ЦД 2 типу зустрічається частіше, розвивається в більш ранньому віці, протікає важче, ніж у загальній популяції, нерідко поєднується з гіпертензією і специфічними ураженнями судин нирок, міокарда, нижніх кінцівок та очей [1, 3].

У патогенезі діабетичних ускладнень одне з провідних місць відводиться оксидантному стресу. Встановлено, що гіперглікемія в результаті активації деяких біохімічних процесів (аутоокисація глюкози, підвищення поліолів, гліколізування білків) приводить до накопичення вільних радикалів. Підвищене утворення вільних радикалів реалізується як при окисненні самих вуглеводів, так і вуглеводів у комплексі з білками, при аутоокисленні жирних кислот у тригліцеридах, фосфоліпідах та ефірах холестерину. Останні пошкоджують мембранні внутрішньоклітинні білки та нуклеїнові кислоти, ліпіди, викликають деградацію і старіння клітин. Накопичення продуктів вільнорадикального окислення сприяє розвитку патологічних процесів: порушенню функцій мітохондрій та змінам у синтезі ненасичених жирних кислот і простагландинів, пошкодженням мембран, ендотеліальній дисфункції та гіперкоагуляції [2,5,7].

Гіперглікемія, інсулінорезистентність, підвищений рівень вільних жирних кислот, наявні при ЦД, сприяють порушенням функції ендотелію та гладеньких клітин судин, підвищують ризик інтраваскулярного тромбоемболічного процесу, які і визначають погіршення серцево-

судинного прогнозу. Дані літератури засвідчують існування не одного, а відразу кількох патологічних чинників, які значно пришвидшують розвиток ІХС. До такої сукупності факторів (кластеру) належать: компенсаторна гіперінсулінемія, інсулінорезистентність, артеріальна гіпертензія, атерогенна дисліпідемія, гіпертрофія лівого шлуночка, абдомінальний тип ожиріння, підвищення агрегації тромбоцитів, зростання активності інгібітора тканинного активатора плазміногену, активація перекисного окислення ліпідів та імунне запалення [6, 7].

В останнє десятиліття досягнуті значні успіхи в розкритті патогенезу ЦД 2 типу, його діагностиці та лікуванні. Однак до тепер зберігається тенденція до захворюваності та високої смертності. До цього часу мало з'ясовано про вплив ЦД 2 типу на морфофункціональні зміни клітин крові за умов гіперглікемії.

**Мета дослідження.** З'ясувати вплив ЦД 2 типу з супутньою ІХС на ультраструктурні особливості гранулоцитів венозної крові в залежності від тривалості і важкості захворювання.

**Матеріали та методи.** Нами було досліджено 38 пацієнтів віком від 48 до 71 року з ЦД 2 типу різного ступеня важкості з супутньою ІХС (стенокардія). Серед пацієнтів було 23 жінок та 15 чоловіків. Група порівняння – 9 пацієнтів зі стабільною стенокардією, які не хворіли на ЦД 2 типу. Дослідження ультраструктури клітин крові проводилось в усіх обстежуваних пацієнтів. Для цього у них натще з ліктьової вени брали 10 мл крові у силікогенізовану пробірку. Кров змішували у пробірці з 2 % розчином цитрату натрію у співвідношенні 9 : 1 та центрифугували при 150 G протягом 10 хвилин до утворення осаду еритроцитів. Надосадову частину крові переносили у чисту пробірку і центрифугували ще 10 хвилин при 300 G. Отриманий осад «білих»

клітин промивали какодилатним буфером і переносили у 1 % розчин осмію на 60 хв. для фіксації. Після фіксації клітини промивали у какодилатному буфері, а потім зневоднювали у спиртових розчинах зростаючої концентрації (30, 50, 70, 90 %) і у 100 % ацетоні по 10 хв. Далі ці зразки крові у формі плівки занурювали в суміш епону та аральдиту і полімеризували в желатинових капсулах при температурі 60° С. Ультратонкі зрізи готували на ультрамикротомі УМТП-3 за допомогою скляних ножів. Перед дослідженням зрізи контрастували у цитраті свинцю за методом E. Reynolds. Контрастовані зрізи досліджували за допомогою електронного мікроскопа УЕМВ -100-Л та фотографували при збільшенні від 3-5000 разів [4].

**Результати досліджень та їх обговорення.** В кожному зрізі блоків із клітинами крові спостерігалась незначна кількість гранулоцитів. Це були сегментоядерні клітини з великою за об'ємом цитоплазмою, з ядром здебільшого дольчастої будови, по периферії якого містився конденсований гетерохроматин, а в центрі – пухкий еухроматин. У цитоплазмі гранулоцитів були наявні внутрішньо-клітинні органели, а саме: велика кількість гранул азурофільних та специфічних (містять ферменти, які беруть участь у фагоцитозі та лізисі мікробів і чужорідного матеріалу), незначну кількість мітохондрій та слабо розвинутий комплекс Гольджі (рис.1). Отже, це були типові гранулоцити, які спостерігаються в крові практично здорових осіб.

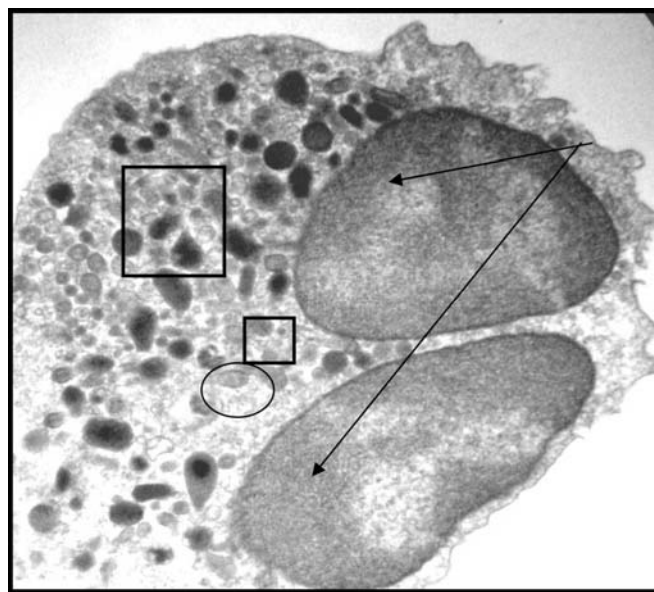


Рис.1. Сегментоядерний лейкоцит із контрольної групи хворих. У цитоплазмі знаходяться два сегменти ядра (→), множинні лізосоми та мікроміхурці (□), мітохондрії (○), апарат Гольджі (□). Контроль. Збільшення 1:5000.

В основній групі пацієнтів досліджувалися нейтрофільні та еозинофільні гранулоцити. Зовнішня оболонка деяких гранулоцитів утворювала чисельні невеликі горбики та псевдоподії, якими вони контактували з іншими клітинами крові (моноцитами, тромбоцитами та еритроцитами) (рис.3, 5). Це свідчить про їх активацію та підвищену схильність до взаємодії з іншими клітинами крові чи судинним ендотелієм. Особливо, це було виявлено в хворих, тривалість ЦД 2 типу в яких складала більше 5 років та характеризувалася важчим перебігом із високою гіперглікемією.

В гранулоцитах здебільшого спостерігалось дводольчасте ядро неправильної форми з різними інвагінаціями та нерівномірно розміщеним хроматином (рис. 2, 3). Також у невеликій кількості спостерігалися мітохондрії округлої чи овальної форми,

місцями з відсутніми кристами (рис.3). Більше ніж у 10 % клітин був відсутній комплекс Гольджі (рис.3).

Велика за об'ємом цитоплазма була оточена клітинною мембраною з виступами, деякі клітини мали частково порушену клітинну оболонку без виходу внутрішньоклітинних органел. У цитоплазмі деяких гранулоцитів венозної крові також була незначна кількість різних за розмірами лізосом частково або повністю дегранульованих, які найчастіше зустрічалися у крові пацієнтів із тривалістю ЦД 2 типу більше 10 років (рис. 2, 4). У цитоплазмі, також, знаходилися гранули різної форми та електронної щільності. Характерним для досліджуваних гранулоцитів була невелика кількість гранул овальної та округлої форми, що містили гомогенний матеріал значної електронно-оптичної щільності (рис.5).

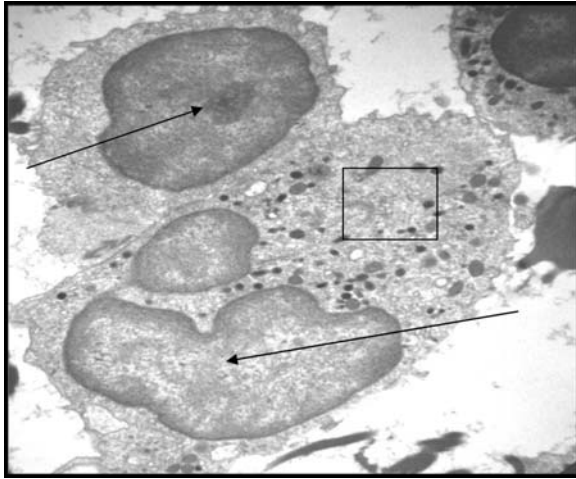


Рис. 2. Сегментоядерний лейкоцит, що з'єднаний з моноцитом із великим ядром, у цитоплазмі якого відсутні органели (→). Лейкоцит містить дводольчасте ядро з краями неправильної форми (←) та незначну кількість органел (□). Хворий 61 р., ЦД 2 типу 15 років. Збільшення 1:4000.

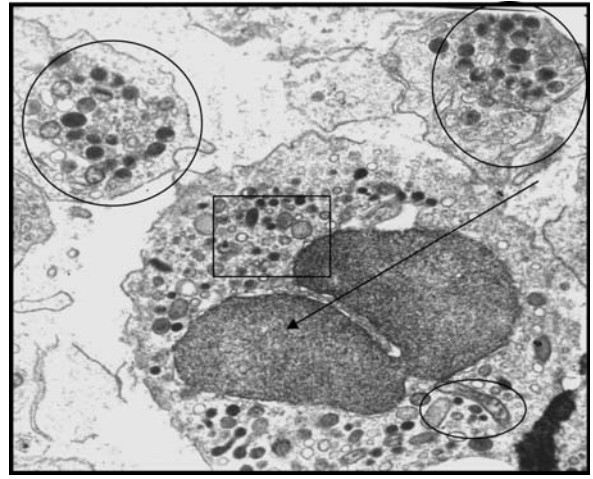


Рис. 3. Електронна мікрофотографія поліморфно-ядерного гранулоцита, що містить ядро неправильної сегментарної будови (→). В цитоплазмі поодинокі мітохондрії (О), незначна кількість лізосом, мікроміхурців та цитогранул (□). Навколо гранулоцита розміщені частково дегранульовані тромбоцити (о), які контактують із ним. Хвора 52 р. ЦД 2 типу тривалістю 4 роки. Збільшення 1:3000.

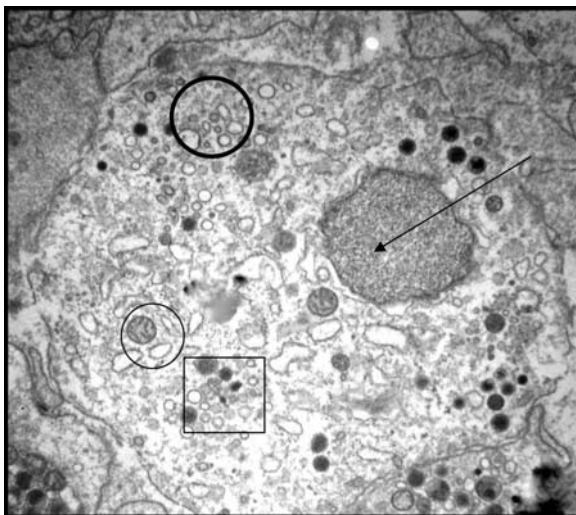


Рис. 4. Ультрамікроскопія нейтрофільного гранулоцита, що містить частину ядра (→), 4 округлі мітохондрії (О), незначну кількість азурофільних гранул (□) та велику кількість дегранульованих лізосом (О). Хворий 47 р., ЦД 2 типу тривалістю 5 років. Збільшення 1:5000.

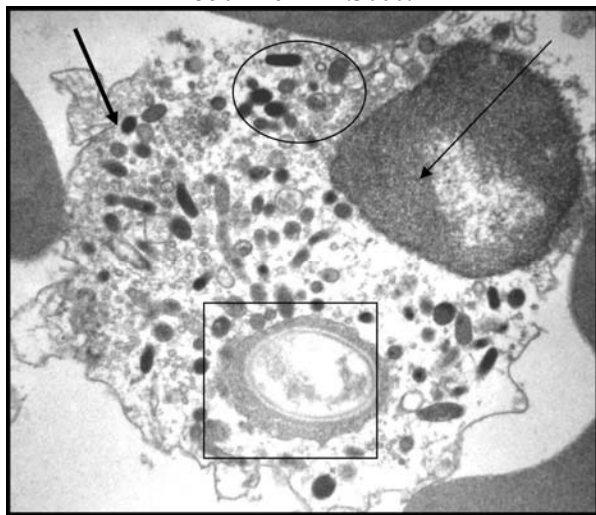


Рис. 5. Ультраструктура гранулоцита. Ядро розміщене на периферії невеликих розмірів (→), в цитоплазмі міститься значна кількість азурофільних гранул різної електронно-оптичної щільності (О). Цитоплазматична мембрана утворює чисельні виступи (→). На периферії – лізосома великих розмірів із щільною оболонкою (□), в середині якої негомогенний (можливо грибок) вміст. Навколо нього розміщені еритроцити, які активно контактують із ним. Хвора 57 р., ЦД 2 типу тривалістю 9 років. Збільшення 1:4000.

**Висновки.** Проаналізувавши ультраструктуру гранулоцитів венозної крові хворих з ІХС та пацієнтів із ЦД 2 типу та ІХС було встановлено, що наявність ЦД 2 типу призводить до виникнення дегенеративних змін у гранулоцитах. Ушкодження

структури гранулоцитів переважно було виявлено при декомпенсованому ЦД 2 типу, високій гіперглікемії і значній тривалості захворювання (більше 5-10 років), що супроводжувалося також і важким перебігом ІХС.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Ефимов А. С. Влияние сахарного диабета на течение ишемической болезни сердца / А. С. Ефимов, Л. К. Соколова, М. Ю. Соколов // Журнал АМН Украины. – 2002. – Т. 8, № 2. – С. 355–365.
2. Єфімов А.С. Діабетичні макроангіопатії / А.С. Єфімов, О.О. Сергієнко. – К.: Укр. інститут ендокринології та обміну речовин ім. Комісаренка, 2005.– 128 с.
3. Маньковский Б.Н. Проблемные вопросы в лечении эндокринных заболеваний / Б.Н. Маньковский // Здоров'я України.-№ 8/1. – 2008. – С.17.
4. Хем А.М. Гистология / А.М. Хем, Д. Д. Кормак. – М.: Мир, 1982. – 1-2 том.
5. Atkinson M.A. Atlas of Diabetes / M.A. Atkinson. New York: Press, 2000. – P. 345.
6. Fritsche A. Characterisation of beta-cell dysfunction of impaired glucose tolerance / A.Fritsche, N.Stefan, E. Hardt // Diabetologia. – Vol. 45, № 7.- 2002. – P. 852-858.
7. Halles C.N. Type 2 diabetes mellitus / C.N. Halles, D.J.P. Barker // Diabetologia. – 1992. – Vol. 35. – P.595-601.

## SUMMARY

## INFLUENCE OF DIABETES MELLITUS TYPE 2 ON MORFOFUNCTIONAL CHANGES OF GRANULOCYTES

**Buchko O.Yu., Kyak Yu.H.**

The aim of our work, was to analyze the impact of diabetes mellitus type 2 venous blood granulocytes, in 38 patients with concomitant ischemic heart disease and in 9 patients without diabetes, using an electronic microscope. Analysis ultrastructure of venous blood granulocytes of patients with ischemic heart disease and patients with type 2 diabetes and ischemic heart disease found that the presence of type 2 diabetes causes degenerative changes in the granulocytes. Damage to the structure of granulocytes were found mainly in decompensated type 2 diabetes, hyperglycemia and significantly higher duration of disease (more than 5-10 years), which is also accompanied by a heavy flow events.

**Key words:** type 2 diabetes, ischemic heart disease, ultrastructure, granulocytes