

УДК 617.735-02:616.379-008.64:612.111

## Морфо-функціональні та структурні зміни еритроцитів пацієнтів із проліферативною діабетичною ретинопатією та різною тривалістю цукрового діабету 2 типу

В. М. Ганюк<sup>1</sup>, аспірант; О. В. Петренко<sup>1</sup>, д-р мед. наук, професор;Л. В. Натрус<sup>2</sup>, д-р мед. наук, професор; О. І. Прусак<sup>1</sup>, аспірант

<sup>1</sup> Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика;  
Київ (Україна)

<sup>2</sup> Національний медичний університет імені О. О. Богомольця  
Київ (Україна)

E-mail: olga15if@meta.ua

### Ключові слова:

осмотичний, механічний гемоліз, гіперглікемія, глікований гемоглобін, порушення мікроциркуляції

**Актуальність.** Гіперглікемія змінює мембранні властивості еритроцитів. Знижуються рівні  $Na^+/K^+$ -АТФази, що порушує внутрішньоклітинний баланс іонів, змінює розмір клітин, осмотичну резистентність, прискорює клітинне старіння, та сприяє порушенню мікросудинної циркуляції.

**Мета** – вивчення морфо-функціональних та структурних змін еритроцитів пацієнтів із проліферативною діабетичною ретинопатією та різною тривалістю цукрового діабету 2 типу (ЦД2).

**Матеріал та методи.** Дослідження включало 106 хворих із різною тривалістю ЦД2, у яких за результатами офтальмологічного обстеження виявлено проліферативну діабетичну ретинопатію (ПДР). Контрольну групу становили особи без ЦД ( $n=37$ ), співставні із пацієнтами за статтю, віком, індексом маси тіла. Морфо-функціональні параметри еритроцитів досліджували за допомогою гематологічного аналізатора MicroCC-20 Plus (Китай). Ступінь гемолізу еритроцитів оцінювали в розчинах NaCl 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,35%; 0,4%; 0,45%; 0,5%; 1,0%; 0,9%. Ступінь механічного гемолізу за допомогою центрифугування 2 хв та 4 хв.

**Результати.** Гемоліз еритроцитів у фізіологічному розчині у пацієнтів з ПДР був в 3-3,3 рази ( $p<0,05$ ) більше, ніж у здорових осіб не мав достовірної різниці в залежності від тривалості ЦД2. Гемоліз еритроцитів пацієнтів в розчині NaCl 0,5% та 0,45% підвищувався в 3,5-4 ( $p<0,05$ ) рази та 2-2,5 рази ( $p<0,05$ ) відповідно. При підвищенні концентрації NaCl до 1,0 % у пацієнтів з ПДР в 2 рази ( $p<0,05$ ) зменшувалась стійкість мембрани еритроцитів у порівнянні із КГ. При цьому, найбільш адаптованими до ушкодження еритроцитів виявилися клітини пацієнтів із тривалістю ЦД 18-20 років. Механічний гемоліз еритроцитів у пацієнтів з ПДР виникав в 2,6-3 разів інтенсивніше при центрифугуванні 2 хв та в 3-3,75 разів більше при центрифугуванні 4 хв.

**Висновки.** У пацієнтів з ПДР в порівнянні із КГ виявили ознаки скорочення терміну перебування клітин в кровотоці за рахунок передчасного пошкодження мембрани клітин. Зменшення структурної стійкості клітин і втрата властивостей ефективного перфузії поглиблює порушення мікроциркуляції на тлі ПДР.

**Актуальність.** Діабетична ретинопатія (ДР) є найчастішим мікросудинним ускладненням цукрового діабету 2 типу (ЦД2) і залишається провідною причиною сліпоти у людей працездатного віку. Глобальна поширеність діабету серед дорослих старше 18 років складала в 2019 році біля 10% населення світу (463 мільйони) і, за прогнозами, підвищиться до 2045 року до 11% (700 мільйонів) [1]. У кожного третього пацієнта з ЦД2 діагностується ДР, а також пов'язані з ураженням мікросудин системні захворювання: інсульт, ішемічна хвороба серця, серцева недостатність, які різко підвищують ризик небезпечності життя [2]. Тривалість ЦД2 понад 5-10 років практично неминуче призводить до поглиблення ДР до проліферативної стадії, що характеризується неоваскуляризацією диску зорового нерва й сітківки, і може викликати преретинальні крововиливи та гемофтальм. Для лікування проліферативної ДР

(ПДР) важливим визначають комплексний підхід, який включає не лише офтальмологічну допомогу і ендокринологічну корекцію, а й впливи на інші патогенетичні механізми розвитку захворювання [3]. Тому пошук ефективних впливів на несудинні механізми ПДР може дати змогу поліпшення стану пацієнтів і притримувати поглиблення судинної катастрофи.

Еритроцити у пацієнтів з діабетом стикаються з безліччю ризиків, таких як гіперглікемія, гіперосмолярність, окислювальний стрес, запалення і порушення ліпідного обміну, що призводить до посилення агрегації, зниження деформованості клітин і зниження плинності мембран. Ці зміни в еритроцитах в кінцевому підсумку

призводять до порушення мікроциркуляції і діабетичних ускладнень [1].

Як важливий компонент кровообігу, еритроцити є чутливим індикатором стану здоров'я організму. Деякі показники параметрів еритроцитів, такі як концентрація гемоглобіну, гематокрит і швидкість осідання еритроцитів, можна виміряти безпосередньо по крові, тоді як середній обсяг клітин (MCV), середній рівень гемоглобіну в клітинах або середня концентрація гемоглобіну в клітинах можна розрахувати тільки на основі декількох вимірюваних показників за допомогою гематологічного аналізатору. Ці параметри відображають стан еритроцитів з різних сторін і можуть бути використані в першу чергу для оцінки морфології, структури, функції і продукції еритроцитів для подальшої діагностики деяких захворювань [4].

Доведено, що у пацієнтів з ЦД2 еритроцити втрачають нормальну гнучкість мембрани та деформабільність [5], що підвищує ризик діабетичних ускладнень. Спостерігаючи за змінами морфології і структури еритроцитів у діабетиків, можна краще зрозуміти прогресування ПДР [6].

Гіперглікемія змінює мембранні властивості еритроцитів, що призводить до підвищеної осмотичної крихкості еритроцитів. Суттєво знижуються рівні  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази, що може спричинити порушення внутрішньоклітинного балансу іонів збільшення розміру клітин, осмотичної крихкості, прискорити клітинне старіння, що сприяє порушенню мікросудинної циркуляції [7,8].

**Метою** роботи було вивчення морфо-функціональних та структурних змін еритроцитів пацієнтів із проліферативною діабетичною ретинопатією та різною тривалістю цукрового діабету 2 типу.

### Матеріал та методи

До обстеження були залучені 106 пацієнтів офтальмологічної клініки із встановленим діагнозом ПДР. Усім хворим були виконані загальноприйняті офтальмологічні обстеження: візометрія, рефрактометрія, статична периметрія Humphrey, тонометрія, біомікроскопія, за необхідністю – гоніоскопія, офтальмоскопія лінзою Goldman, оптична когерентна томографія на OCTDRI Triton (Topcon, Японія) у режимі macula. Обстеження сітківки проводились фундус-камерою з фотографуванням очного дна у 7 перехресних полях згідно з протоколом Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS). Флюоресцентну ангіографію виконували за показаннями.

Гематологічні та загально-клінічні дослідження виконували в атестованих лабораторіях Науково-дослідного інституту експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О. О. Богомольця за стандартними методиками. Морфо-функціональні параметри еритроцитів досліджували за допомогою гематологічного аналізатора MicroCC-20 Plus (Китай). Кількісне визначення ступеня гемолізу (Г) еритроцитів в забуферених гіпотонічних розчинах NaCl проводили на на-

півавтоматичному біохімічному аналізаторі BS-3000 M з інтенсивністю поглинання світла при довжині хвилі 500-560 нм. У пробірки вносили по 5 мл розчину NaCl в концентраціях 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,35%; 0,4%; 0,45%; 0,5%; 1,0%; 0,9%. В кожному з них додавали по 0,02 мл венозної крові. Після інкубації при кімнатній температурі протягом 30 хв зразки центрифугували при 2000 об/хв протягом 5 хв. Проводили фотоколориметричне вимірювання надосадової рідини (в кюветі товщиною 10 мм) проти холостої проби. Інтенсивність гемолізу (%) в кожній пробірці розраховували за формулою:  $G = (E_x / E_1) \times 100\%$ , де  $E_x$  – екстинкція надосадової рідини в досліджуваній пробі,  $E_1$  – екстинкція надосадової рідини в пробірці з 0,1% розчином NaCl, яка приймалась за 100%. Для моделювання різного ступеня механічного гемолізу еритроцитів, венозну кров (1,5 мл) забирали у стерильні пробірки з попередньо внесеним гепарином, ресуспендували на центрифугі-вортекс «Мікроспін» FV-2400 2 хв та 4 хв. За 100% гемоліз приймали максимальні показання оптичної щільності суспензії еритроцитів з 0,1% розчином NaCl, а відсутність гемолізу – з 0,9% розчином NaCl.

Хворих поділили на чотири групи за тривалістю ЦД2. У пацієнтів 1-й групи Age\_1 (n=17) середній вік ( $M \pm m$ ) склав 61,7 $\pm$ 2,8 років, тривалість ЦД2 визначалася до 10 років, у 2-й групі Age\_2 (n=19) середній вік – 62,3 $\pm$ 2,2 років, тривалість ЦД2 була 10-17 років, у 3-й групі Age\_3 (n=49) середній вік – 64,1 $\pm$ 1,5 років, тривалість ЦД2 – 18-20 років, у 4-й групі Age\_4 (n=21) середній вік – 68,1 $\pm$ 2,5 років, тривалість ЦД2 – понад 20 років. Гендерний аналіз складу досліджуваних груп за статтю не виявив достовірних відмінностей, доля жінок в групах була наступною: Age\_1 – 55%, Age\_2 – 67%, Age\_3 – 54%, Age\_4 – 65%.

Групу порівняння контрольну (КГ, n=37, жінок 65%) склали добровольці, у яких не було порушення вуглеводного обміну (за рівнем глікованого гемоглобіну), що звернулися з метою профілактичного огляду в Університетську клініку НМУ імені О. О. Богомольця і були співставні за віком та статтю із пацієнтами основної групи.

Статистичний аналіз даних виконаний за допомогою пакету IBM SPSS Statistics 23 та програми MedStat. За допомогою критерію Шапіро-Уїлка перевіряли розподіл даних. Для порівняння показників гемолізу за різних концентрацій NaCl використовували критерій Шеффе (множинного порівняння) та Даннет (двосторонній) у порівнянні із КГ. Дані наводили у вигляді середнього арифметичного значення показника (M) та стандартної похибки середнього (m). Відмінності в групах вказували у вигляді p із наведенням рівня значущості. Вважали, що дані відрізняються за  $p < 0,05$ .

Дане дослідження було проведено відповідно до принципів Гельсінської декларації.

### Результати

Вивчення офтальмологічного статусу за протоколом ETDRS показало, що тривалість основного захво-

рювання корелювала із поглибленням ПДР. У пацієнтів груп Age\_1 та Age\_2 переважно виявлена початкова та помірна ПДР, а у пацієнтів груп Age\_3 та Age\_4 переважно ПДР високого ризику та прогресуюча. Не зважаючи на те, що хворі отримували терапію за консультаціями ендокринолога, рівні глюкози та глікованого гемоглобіну у пацієнтів достовірно перевищували показники КГ (табл.1). Суттєвої різниці показників вуглеводного обміну між групами пацієнтів не виявлено. Однак, як відомо, що «золотим стандартом» оцінки гіперглікемії є глікований гемоглобін, ми визначили підвищення в групі Age\_4 на 15% від показників груп Age\_1-3, як стійку гіперглікемію у пацієнтів цієї групи і низьку ефективність терапії ЦД.

Оскільки існує фізіологічна різниця еритроцитарних параметрів у чоловіків та жінок, ми провели аналіз усіх показників із врахуванням статі. Наводимо приклад лише RBC в групах із визначенням статі пацієнтів (рис. 1). Коливання усіх показників у осіб різної статі не було суттєвим та достовірним. Більш того, наприклад, в групах Age\_1, Age\_3 кількість еритроцитів була більшою у жінок. Ми вважаємо, що це природне, оскільки гендерні відмінності еритроцитарних параметрів визначає вплив статевих гормонів на інтенсивність

еритропоезу. У наших групах середній вік досліджуваних осіб перевищує 60 років і вплив статевих гормонів на процеси проліферації кісткового мозку суттєво знижений. Тому, подальші дослідження еритроцитарних параметрів ми наводимо узагальнені по групах, без кореляції із статтю.

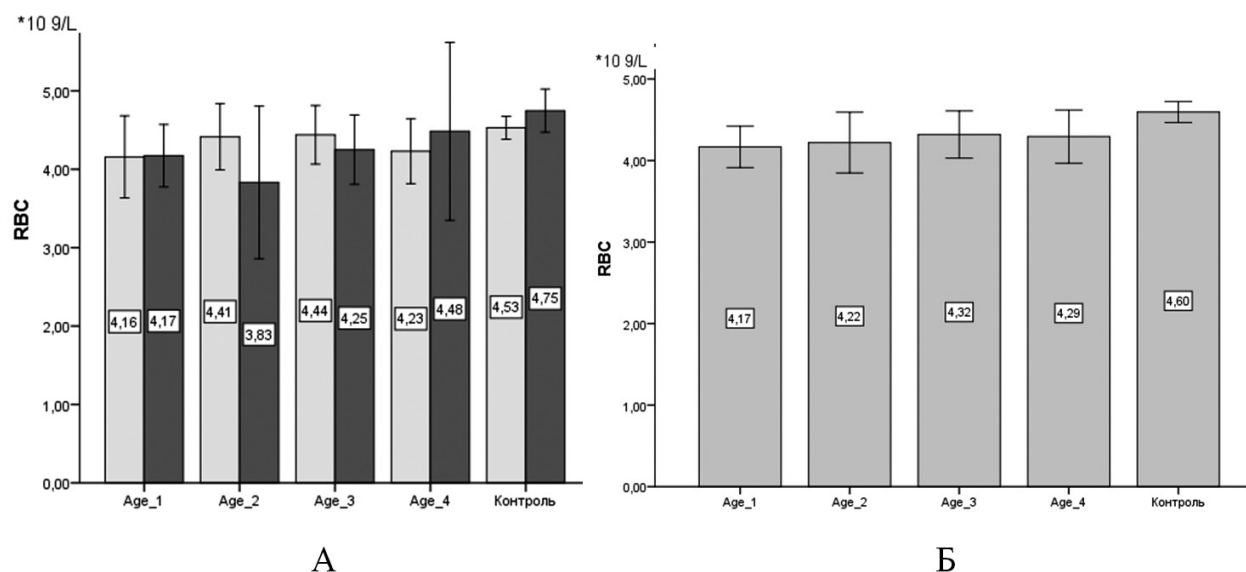
Оцінка морфо-функціональних параметрів еритроцитів показала, що кількісні еритроцитарні показники RBC, HGB, HTC, MCH, MCHC, MCV, RDW, відображали чітку картину анемічного синдрому за рахунок зменшення кількості клітин – переносників кисню (рис.1 А).

У пацієнтів з ПДР в порівнянні із КГ виявили різницю вмісту гемоглобіну та залежних від нього розрахункових показників MCH та MCHC. Можливо, така картина обумовлена порушенням утворення гемоглобіну в еритробласти та його накопиченням у зрілій клітині. В той же час, не виявили чіткої залежності зміни морфо-функціональних параметрів еритроцитів від тривалості ЦД2. Водночас, ми виявили стійку тенденцію у пацієнтів в порівнянні із КГ до зменшення гематокриту і еритроцитів. На тлі незмінених параметрів анізоцитозу MCV та RDW така картина відображає втрату клітин з кровотока, що також обумовлює гіпоксію у пацієнтів

**Таблиця 1.** Показники вуглеводного обміну в досліджуваних групах пацієнтів з ПДР та різною тривалістю ЦД 2 (Age\_1-4) та осіб контрольної групи КГ, (M±m)

| Показник                 | Age_1, n=17 | Age_2, n=19 | Age_3, n=49 | Age_4, n=21 | КГ, n=43 |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------|
| Глюкоза крові, ммоль/л   | 10,25±1,2*  | 9,98±0,8*   | 9,45±0,6*   | 10,83±0,7*  | 5,0±0,1  |
| Глікований гемоглобін, % | 7,26±0,6*   | 7,94±0,6*   | 7,29±0,5*   | 9,3±0,5*    | 5,2±0,09 |

Примітка. \* – p < 0,05 у порівнянні із КГ

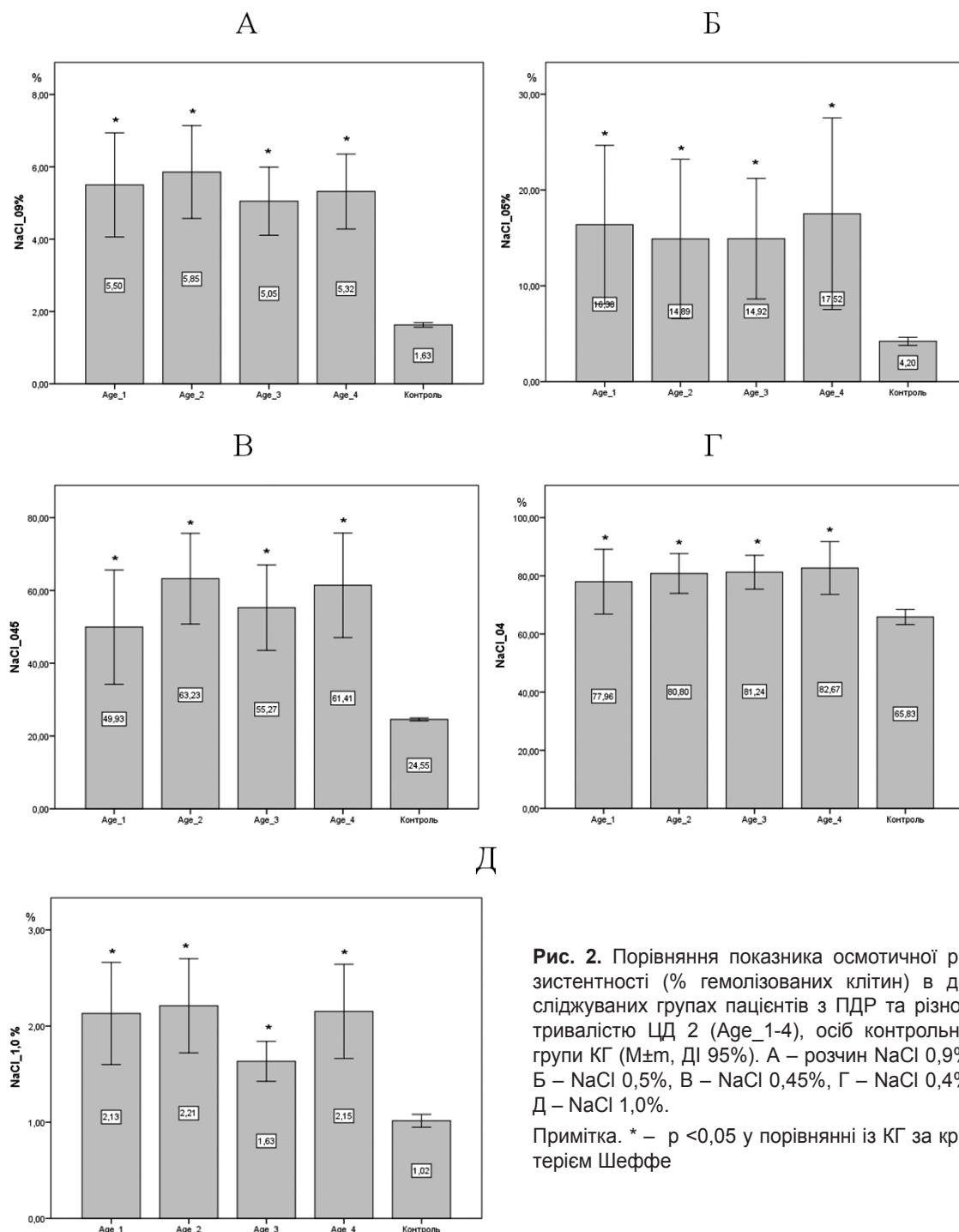


**Рис. 1.** Кількість еритроцитів в досліджуваних групах пацієнтів з ПДР та різною тривалістю ЦД 2 (Age\_1-4) та осіб контрольної групи КГ (M±m, ДІ 95%), А – розподіл за гендерною відзнакою: світлі стовпчики – жінки, темні – чоловіки. Б – загальна кількість в групі.

з ЦД2 та вимушує замислитися над причинами попереднього старіння клітин. Одним із факторів, який зумовлює загибель еритроцитів, є зменшення їх осмотичної та механічної резистентності, що призводить до гемолізу клітин. Отже, наступним кроком нашого дослідження було вивчення ступеня гемолізу еритроцитів стандартизованими методами.

Виявили суттєву різницю у структурних властивостях еритроцитів пацієнтів з ПДР у порівнянні із КГ (рис. 2).

За нормальної осмотичної резистентності гемоліз еритроцитів починається у розчині NaCl 0,5% (мінімальна осмотична резистентність), повний гемоліз еритроцитів відбувається при концентрації NaCl 0,35% (максимальна осмотична резистентність). У розчині NaCl 0,9% у пацієнтів з ПДР осмотичний гемоліз не мав статистичної різниці в залежності від тривалості ЦД2, але був в 3-3,3 рази ( $p < 0,05$ ) більше, ніж у здорових осіб. У розчині NaCl 0,5%, осмотична резистентність еритроцитів пацієнтів була зменшена відносно



**Рис. 2.** Порівняння показника осмотичної резистентності (% гемолізованих клітин) в досліджуваних групах пацієнтів з ПДР та різною тривалістю ЦД 2 (Age\_1-4), осіб контрольної групи КГ ( $M \pm m$ , ДІ 95%). А – розчин NaCl 0,9%, Б – NaCl 0,5%, В – NaCl 0,45%, Г – NaCl 0,4%, Д – NaCl 1,0%.

Примітка. \* –  $p < 0,05$  у порівнянні із КГ за критерієм Шеффе

**Таблиця 2.** Морфо-функціональні параметри еритроцитів в досліджуваних групах пацієнтів з ПДР та різною тривалістю ЦД 2 (Age\_1-4) та осіб контрольної групи КГ (M±m)

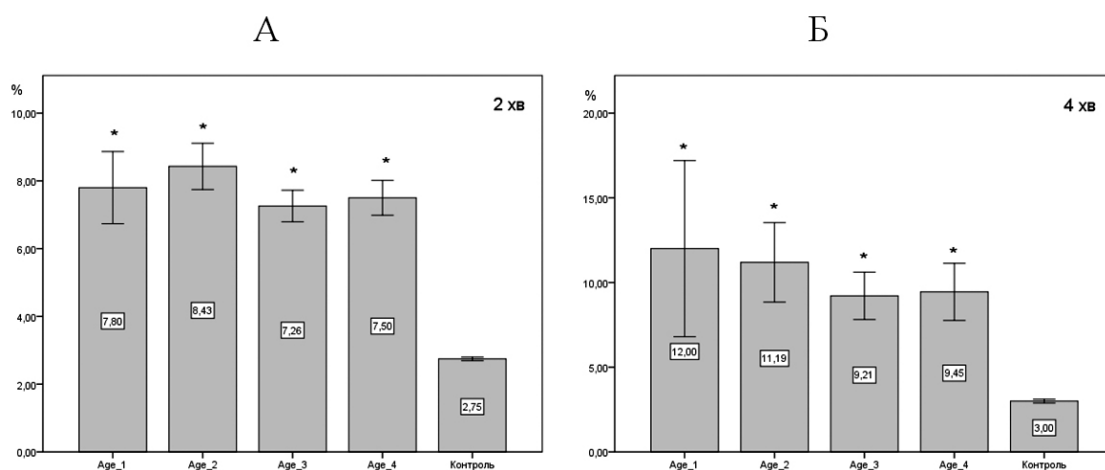
| Показник  | Age_1, n=17                      | Age_2, n=19                         | Age_3, n=49                         | Age_4, n=21             | КГ, n=43   |
|-----------|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------|------------|
| HGB, g/l  | 131,6±5,2<br>p=0,051<br>#p=0,009 | 130,16±2,64<br>*p=0,015<br>#p=0,002 | 131,73±5,25<br>*p=0,006<br>#p=0,001 | 134,58±5,17<br>#p=0,023 | 150±2,27   |
| HTC, %    | 35,66±1,15<br>#p=0,049           | 36,68±0,85                          | 37,70±1,36                          | 37,0±1,37               | 39,34±0,47 |
| MCH, pg   | 31,3±1,01                        | 31,42±1,37                          | 30,42±0,64<br>#p=0,039              | 31,47±0,95              | 32,95±0,54 |
| MCHC, g/l | 396,0±9,1                        | 356,16±8,9<br>#p=0,019              | 348,63±4,8<br>*p=0,001<br>#p=0,0003 | 365,25±9,8              | 381,29±3,8 |
| MCV, fl   | 84,8±1,58                        | 87,98±2,24                          | 87,24±1,34                          | 86,3±1,46               | 86,3±0,79  |
| RDW, %    | 11,62±0,11                       | 11,64±0,08                          | 11,74±0,09                          | 11,54±0,11              | 11,71±0,16 |

Примітка. \* –  $p < 0,05$  у порівнянні із КГ за критерієм Шеффе, # –  $p < 0,05$  у порівнянні із КГ за критерієм Даннет (двосторонній)

осіб КГ – в 3,5-4 ( $p < 0,05$ ) рази і також не відрізнялася достовірно в залежності від тривалості ЦД2. У розчині NaCl 0,45% різниця осмотичної резистентності пацієнтів з КГ складала 2-2,5 рази ( $p < 0,05$ ), а при концентрації NaCl 0,4%, відрізнялася на 20% ( $p < 0,05$ ), і практично 80 % еритроцитів пацієнтів ушкоджувалися.

При підвищенні концентрації NaCl до 1,0% у пацієнтів з ПДР також спостерігалось зменшення стійкості мембрани еритроцитів в 2 рази ( $p < 0,05$ ), що підвищувало гемоліз у порівнянні із КГ. При цьому, найбільш адаптованими до ушкодження еритроцитів виявилися клітини пацієнтів групи Age\_3, у яких доля ушкоджених клітин в 1,5 рази ( $p < 0,05$ ) була більшою, ніж у КГ,

але різниця не була достовірною у порівнянні із іншими групами пацієнтів. Стійкість до ушкодження мембран еритроцитів пацієнтів також суттєво відрізнялася у порівнянні із КГ (рис. 3). Механічний гемоліз виникав при режимі центрифугування протягом 2 хв у пацієнтів в 2,6-3 р інтенсивніше ніж у здорових осіб. А при центрифугуванні 4 хв – у пацієнтів порушувалося в 3-3,75 разів більше клітин. При цьому, більш тривале центрифугування витримували клітини у пацієнтів із більшою тривалістю ЦД2, і доля еритроцитів, що гемолізувалися, на початку захворювання була на 18% більше, ніж після довгочасної адаптації організму до порушення обміну.

**Рис. 3.** Порівняння показника механічного гемолізу еритроцитів (% гемолізованих клітин) в досліджуваних групах пацієнтів з ПДР та різною тривалістю ЦД 2 (Age\_1-4), й осіб контрольної групи КГ (M±m, ДІ 95%). А – при режимі центрифугування 2 хвилини, Б – 4 хвилини.

Примітка. \* –  $p < 0,05$  у порівнянні із КГ за критерієм Шеффе

## Обговорення

У клінічній практиці вимірювання морфо-функціональних показників еритроцитів використовують для диференціальної діагностики анемії. Blaslov та співавт. показали, що як MCV, так і RDW були позитивно пов'язані з HbA1c і виникненням діабетичної ретинопатії [9]. Повідомляється також, що MCV є потенційним фактором ризику захворювання периферичних артерій і залежить від тяжкості захворювання; отже, його можна використовувати в якості предиктора макросудинних ускладнень діабету [10]. Однак ми не виявили достовірної різниці вказаних параметрів у пацієнтів з ПДР у порівнянні із КГ та у пацієнтів із різною тривалістю ЦД2.

Ми спостерігали тенденцію до зменшення RBC та достовірне зменшення вмісту гемоглобіну в еритроцитах пацієнтів з ПДР. Вважаємо, що це пов'язане із скороченням перебування клітин в кровотоці та передчасним порушенням клітин, так званим «еріптозом» [11]. Є дані про скорочення тривалості життя еритроцитів пацієнтів з діабетом на 13% [12]. Гіперглікемія, підвищений осмос і ОС у пацієнтів з діабетом змінюють концентрацію заліза і білка всередині і поза еритроцитів, а потім активують шляхи еріптоза. У пацієнтів з діабетом основні шляхи еріптоза включають обмін іонів кальцію, активацію факторів тромбоцитів і каспаз; які взаємодіють один з одним [11].

Важливим механізмом порушення структури мембрани вважається підсилення неферментативного глікозилювання мембранних та внутрішньоклітинних білків [9]. Перш за все це відбивається на функції гемоглобіну та його здібності віддавати кисень тканинам. Глікозилювання спектрину також призводить до незворотного порушення структурно-функціональних властивостей клітини, механічної стабільності клітин, зниження їх резистентності до механічних впливів [13].

В роботі [14] показано, що у пацієнтів з ПДР зниження деформованості еритроцитів, яка обумовлена їх особливою динамічною формою і дозволяє забезпечувати ефективну перфузію, поглиблювало порушення мікроциркуляції. Дослідники [15] виявили, що гіперглікемія підвищує осмотичну крихкість еритроцитів. Це виявляється внаслідок окисних модифікацій мембранозв'язаних білків у еритроцитах. Мембрана еритроцитів стає слабкою і не витримує навіть м'якого гіпотонічного стану, що призводить до підвищеної осмотичної крихкості. У хворих на ЦД2 із поганим контролем глікемії це може бути ризиком розвитку анемії та супутніх ускладнень.

Ми також довели суттєве погіршення осмотичної та механічної резистентності еритроцитів у пацієнтів з ПДР, яке не корелювало із тривалістю ЦД2, але суттєво розрізняло функціональні властивості еритроцитів у пацієнтів. Такі спостереження визначають вагому роль несудинних патогенетичних механізмів у розвитку та поглибленні ретинопатії, та визначають напрямки та

шляхи фармакологічної корекції мікроциркуляторних ускладнень на тлі ЦД2.

Таким чином, у пацієнтів з ПДР у порівнянні із КГ виявили зменшення вмісту гемоглобіну та залежних від нього розрахункових показників MCH та MCHC, але без кореляції із тривалістю ЦД2. Виявлену тенденцію до зменшення RBC у пацієнтів з ПДР вважаємо пов'язаною із скороченням перебування клітин в кровотоці та передчасним еріптозом. Гемоліз еритроцитів у фізіологічному розчині у пацієнтів з ПДР був в 3-3,3 рази ( $p < 0,05$ ) більше, ніж у здорових осіб і не мав достовірної різниці в залежності від тривалості ЦД2. Гемоліз еритроцитів пацієнтів в розчині NaCl 0,5% та 0,45% підвищувався в 3,5-4 ( $p < 0,05$ ) рази та 2-2,5 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно. При підвищенні концентрації NaCl до 1,0 % у пацієнтів з ПДР також спостерігалось в 2 рази ( $p < 0,05$ ) зменшення стійкості мембрани еритроцитів у порівнянні із КГ. При цьому, найбільш адаптованими до ушкодження еритроцитів виявилися клітини пацієнтів із тривалістю ЦД 18-20 років. Механічний гемоліз еритроцитів у пацієнтів з ПДР виникав в 2,6-3 разів інтенсивніше при центрифугуванні 2 хв та в 3-3,75 разів більше при центрифугуванні 4 хв, що є свідченням зменшення структурної стійкості клітин і втрати властивостей до механізмів ефективної перфузії, що неминуче поглиблює порушення мікроциркуляції.

## Література

1. **Yaqi Wang, Peiyuan Yang, Zhaoli Yan, Zhi Liu, Qiang Ma, Zehong Zhang et al.** The Relationship between Erythrocytes and Diabetes Mellitus // *Journal of Diabetes Research*. – 2021. – Feb 25. – Article ID 6656062, 9 pages.
2. **Ning Cheung, Paul Mitchell, Tien Yin Wong.** Diabetic retinopathy // *The Lancet*. – 2010. – Vol.376 (9735). – P.124-136.
3. **Paolo A.S. Silva, Lloyd Paul Aiello.** Proliferative Diabetic Retinopathy. – In *Retina (Fifth Edition)*, (2013) Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/proliferative-diabetic-retinopathy>
4. **Ford J.** Red blood cell morphology // *International Journal of Laboratory Hematology*. – 2013. – Vol. 35 (3). – P.351–357.
5. **Chang H.Y., Li X., Karniadakis G.E.** Modeling of Biomechanics and Biorheology of Red Blood Cells in Type 2 Diabetes Mellitus // *Biophys J*. – 2017. – Vol. 113(2). – P.481-490.
6. **Palomino-Schätzlein M., Lamas-Domingo R., Ciudin A. et al.** A Translational In Vivo and In Vitro Metabolomic Study Reveals Altered Metabolic Pathways in Red Blood Cells of Type 2 Diabetes // *Journal of Clinical Medicine*. – 2020. – Vol. 9 (6). – P.1619.
7. **Rownak, N., Akhter, S., Khatun, M., Baksh, S., Rafiq, S., & Rahman, M.** Study of Osmotic Fragility Status of Red Blood Cell in Type II Diabetes Mellitus Patients // *European Journal of Environment and Public Health*. – 2017. – Vol.1(2). – 06.
8. **Kung C.M., Tseng Z.L., Wang H.L.** Erythrocyte fragility increases with level of glycosylated hemoglobin in type 2 diabetic patients // *Clin Hemorheol Microcirc*. – 2009. – Vol.43(4). – P.345-51.
9. **Blaslov K., Kruljac I., Mirošević G. et al.** The prognostic value of red blood cell characteristics on diabetic retinopa-

- thy development and progression in type 2 diabetes mellitus // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. – 2019. – Vol. 71(4). – P. 475-481.
10. Kor C.T., Hsieh Y.P., Chang C.C., and Chiu P.F. The prognostic value of interaction between mean corpuscular volume and red cell distribution width in mortality in chronic kidney disease // *Clinical Nutrition ESPEN*. – 2018. – Vol. 8 (1). – P. 11870.
  11. Bissinger R., Bhuyan A. A. M., Qadri S. M., and Lang F. Oxidative stress, eryptosis and anemia: a pivotal mechanistic nexus in systemic diseases // *The FEBS Journal*. – 2018. – Vol. 286 (5). – P. 826-854.
  12. Qadri S. M., Bissinger R., Solh Z., and Oldenburg P.-A. Eryptosis in health and disease: A paradigm shift towards understanding the (patho)physiological implications of programmed cell death of erythrocytes // *Blood Reviews*. – 2017. – Vol. 31 (6). – P. 349-361.
  13. Ференц І.В., Бродяк І.В., Люта М.Я., Кулачковський О.Р., Сибірна Н.О. Вплив продукту декарбосилування L-аргініну на морфофункціональні показники еритрону за умов експериментального цукрового діабету у шурів // *Фізіол. журн.* – 2014. – Т. 60, № 4. – С. 70-79.
  14. Lee S., Lee M. Y., Nam J. S. et al., Hemorheological approach for early detection of chronic kidney disease and diabetic nephropathy in type 2 diabetes // *Diabetes Technology & Therapeutics*. – 2015. – Vol. 17 (11). – P. 808-815.
  15. Habbu Padmini, Kale Bhagwat. Monitoring Glycosylated Haemoglobin and Osmotic Fragility with Respect to Blood Glucose Level in Type II Diabetes Mellitus // *International Journal of Health Sciences & Research*. – 2015. – Vol. 5; Issue: 4. – Available from: [www.ijhsr.org](http://www.ijhsr.org).
- Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.*
- Джерела фінансування: зовнішні джерела фінансування даного дослідження відсутні.*

Поступила 19.07.202

## Морфо-функциональные и структурные изменения эритроцитов пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией и разной продолжительностью сахарного диабета 2 типа

Ганюк В. М., Петренко О.В., Натрус Л. В., Прусак О. І.

Национальный университет охраны здоровья Украины имени П. Л. Шупика (Киев, Украина),  
Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца (Киев, Украина)

**Актуальность.** Гипергликемия влияет на мембранные свойства эритроцитов. Снижаются уровни  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазы, что нарушает внутриклеточный баланс ионов, изменяет размер клеток, осмотическую резистентность, ускоряет клеточное старение и способствует нарушению микрососудистой циркуляции.

**Цель** - изучение морфо-функциональных и структурных изменений эритроцитов пациентов с пролиферативной диабетической ретинопатией и разной продолжительностью сахарного диабета 2 типа (СД2).

**Материал и методы.** Исследование включало 106 больных с различной продолжительностью СД2, у которых по результатам офтальмологического обследования диагностирована пролиферативная диабетическая ретинопатия (ПДР). Контрольную группу ( $n = 37$ ) составили лица без СД, сопоставимые с пациентами по полу, возрасту, индексу массы тела. Морфо-функциональные параметры эритроцитов исследовали с помощью гематологического анализатора MicroCC- 20 Plus (Китай). Степень гемолиза эритроцитов оценивали в растворах  $\text{NaCl}$  0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,35%; 0,4%; 0,45%; 0,5%; 1,0%; 0,9%. Степень механического гемолиза с помощью центрифугирования 2 мин и 4 мин.

**Результаты.** Гемолиз эритроцитов в физиологическом растворе у пациентов с ПДР был в 3-3,3 раза ( $p < 0,05$ ) больше, чем у здоровых лиц, не имел достоверной разницы в зависимости от продолжительности СД2. Гемолиз эритроцитов пациентов в растворе  $\text{NaCl}$  0,5% и 0,45% повышался в 3,5-4 ( $p < 0,05$ ) раза и 2-2,5 раза ( $p < 0,05$ ) соответственно. При повышении концентрации  $\text{NaCl}$  до 1,0% у пациентов с ПДР в 2 раза ( $p < 0,05$ ) уменьшалась устойчивость мембраны эритроцитов по сравнению с контрольной группой. При этом, наиболее адаптированными к повреждению эритроцитов оказались клетки пациентов с длительностью СД2 18-20 лет. Механический гемолиз эритроцитов у пациентов с ПДР возникал в 2,6-3 раз интенсивнее при центрифугировании 2 мин и в 3-3,75 раз был больше при центрифугировании 4 мин.

**Выводы.** У пациентов с ПДР по сравнению с КГ выявлены признаки сокращения срока пребывания клеток в кровотоке за счет преждевременного повреждения мембраны клеток. Уменьшение структурной устойчивости клеток и потеря свойств эффективной перфузии усугубляет нарушение микроциркуляции на фоне ПДР.

**Ключевые слова:** осмотический, механический гемолиз, гипергликемия, гликированный гемоглобин, нарушение микроциркуляции